

ANNÉE 1941

N°.....

THÈSE
POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

336

PAR
Henry LÉTARD

Né le 5 Juin 1913 à Paris

LES TROUBLES DE LA COAGULATION DU SANG
PAR DÉFICIENCE
EN PROTHROMBINE ET EN THROMBOPLASTINE

Président de Thèse : M. FIESSINGER, Professeur

LIBRAIRIE LE FRANÇOIS

PARIS
LIBRAIRIE LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

1941

YOGA SUTRA

ANNÉE 1941

N°

THÈSE
POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR
Henry LÉTARD

Né le 5 Juin 1913 à Paris

LES TROUBLES DE LA COAGULATION DU SANG
PAR DÉFICIENCE
EN PROTHROMBINE ET EN THROMBOPLASTINE

Président de Thèse : M. FIESSINGER, Professeur

PARIS
LIBRAIRIE LE FRANÇOIS
91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

1941

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	LÉON BINET.
Physique médicale.....	STROHL.
Chimie médicale.....	POLONOVSKI
Bactériologie	ROBERT DEBRÉ.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générale.....	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	PASTEUR-VALLERY-RADOT.
Pathologie chirurgicale.....	MONDOR.
Anatomie pathologique.....	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.....	TIFFENEAU.
Thérapeutique	AUBERTIN.
Hygiène et médecine préventive.....	TANON.
Médecine légale.....	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	LEVY-VALENSI.
Pathologie expérimentale et comparée....	HENRI BENARD.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.	CHIRAY.
	ABRAMI.
Clinique médicale.....	FIESSINGER.
	LOEPER
	RATHERY.
	LEREBoullet.
	NOBECOURT.
	LAIGNEL-LAVASTINE.
Hygiène et clinique de la première enfance	GOUGEROT.
Clinique des maladies des enfants.....	GUILLAIN.
Clinique des maladies mentales et des ma-	LEMIERRE.
ladies de l'encéphale.....	CUNEO
Clinique des maladies cutanées et syphi-	GOSSET
litiques	GREGOIRE
Clinique des maladies du système nerveux	LENORMANT.
Clinique des maladies infectieuses.....	VELTER.
	CHEVASSU.
Clinique chirurgicale.....	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique ophtalmologique.....	LEVY-SOLAL.
Clinique urologique	MOCQUOT.
Clinique d'accouchements.....	OMBREDANNE
Clinique gynécologique.....	HARVIER.
Clinique chirurgicale infantile et ortho-	LEMAITRE.
pédie	PIERRE DUVAL.
Clinique thérapeutique médicale.....	M. VILLARET.
Clinique oto-rhino-laryncologique.....	TROISIER.
Clinique thérapeutique chirurgicale.....	MATHIEU.
Clinique propédeutique.....	LAUBRY.
Clinique de la Tuberculose.....	CLOVIS VINCENT.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'a-	N...
dulte	HAZARD.
Clinique cardiologique	MULON.
Clinique de neuro-chirurgie	OLIVIER.
Assistance Médico-Sociale.....	SANNIÉ.
	VERNE.
Professeurs sans chaire.....	

II. — AGREGÉS EN EXERCICE

MM.

hologie chirurgicale.. AMELINE.
 hologie médicale..... BARIETY.
 hologie médicale BERNARD ETIENNE.
 hologie..... BESANÇON JUSTIN.
 térilogie..... BONNET.
 inie BOULANGER.
 hologie médicale..... BOULIN.
 hologie médicale..... BROUET.
 tologie BULLIARD.
 thologie médicale..... CACHERA.
 atomie CORDIER.
 thologie médicale COSTE.
 ologie COUVELAIRE.
 atomie pathologique DELARUE.
 hologie médicale DELAY.
 hysique DEGREZ H.
 édecine légale DESOILLE.
 bstétrique DIGONNET.
 hysique DOGNON.
 athologie chirurgicale FEVRE.
 athologie chirurgicale.. FUNCK-BRENTANO
 arasitologie GALLIARD.
 atnologie médicale..... GARCIN.
 natomie pathologique Mlle GAUTHIER-VILLARS
 athologie médicale..... DE GENNES.

MM.

Histologie GIROUD.
 Pathologie médicale..... HAGUENAU.
 Oto-rhino-laryngologie . HALPHEN.
 Hygiène JOANNON.
 Obstétrique LACOMME
 Obstétrique LANTUEJOUL.
 Parasitologie LAVIER.
 Pathologie médicale LELONG.
 Pathologie expérimentale LEMAIRE.
 Pathologie médicale ... LENEGRE.
 Pharmacologie Mlle J. LEVY.
 Pathologie médicale MARCHAL.
 Pathologie chirurgicale MENEGAUX.
 Pathologie médicale ... MOLLARET.
 Pathologie médicale MOUQUIN.
 Pathologie chirurgicale . PATEL.
 Pathologie chirurgicale . PETIT-DUTAILLIS.
 Ophtalmologie RENARD.
 Physiologie RICHET.
 Pathologie chirurgicale . SENEQUE.
 Pathologie chirurgicale . SICARD.
 Pathologie médicale SOULIE.
 Obstétrique SUREAU.
 Pathologie médicale TURPIN.
 Pathologie chirurgicale . WILMOTH.

III. — AGREGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.

athologie chirurgicale.. ALGLAVE.
 Pharmacologie BUSQUET.
 hysiologie CHAILLEY-BERT
 Obstétrique GUÉNIOT.
 Pathologie chirurgicale.. HEITZ-BOYER.

MM.

Anatomie pathologique.. HUGUENIN.
 Obstétrique LE LORIER.
 Parasitologie NEVEU-LEMAIRE.
 Médecine légale..... PIEDELIEVRE.
 Obstétrique VAUDESCAL.

IV. — AGREGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.
ALAJOUANINE.
BRULÉ.
CATHALA.
CHABROL.
CHEVALIER.
DONZELOT.
DUVOIR.
GASTINEL.
LAROCHE G.
LIAN.
MOREAU.
SEZARY.

Clinique
médicale.

MM.
BASSET.
BROCQ.
CADENAT.
FEY.
GATELLIER.
de GAUDART
d'ALLAINES
LEVEUF.
MOULONGUET
MOURE.
QUENU.

Clinique
chirurgicale

MM.
ECALLE
METZGER.
PORTES
VIGNES

Clinique obstétricale.

V. — CHARGES DE COURS

Education physique.....
Radiologie clinique.....
Stomatologie
Puériculture

MM.
CHAILLEY-BERT, agrégé.
LEDoux-LEBARD.
RUPPE.
WEIL-HALLÉ.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES PARENTS

En témoignage de mon immense affection et de ma reconnaissance infinie.

108747

A MA FIANCEE

*En gage de ma profonde ten-
dresse.*

MEIS ET AMICIS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR FIESSINGER

Professeur de Clinique Médicale
à la Faculté de Médecine de Paris
Membre de l'Académie de Médecine
Médecin de l'Hôtel-Dieu
Officier de la Légion d'Honneur

*Qui nous a sans cesse aidé
de ses conseils au cours de nos
études et de l'élaboration de ce
travail, et a bien voulu en
accepter la présidence.*

*En témoignage de notre sin-
cère reconnaissance et de notre
profond attachement.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR G. MAINGOT

Dont l'enseignement, les conseils et l'amitié nous furent si précieux.

En témoignage de notre très profonde gratitude et de notre respectueuse et très grande affection.

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX

MONSIEUR LE PROFESSEUR RATHERY

MONSIEUR LE PROFESSEUR CUNEO

MONSIEUR LE PROFESSEUR LARDENOIS

(in memoriam)

MONSIEUR LE DOCTEUR RENÉ BENARD

Médecin des Hôpitaux

MONSIEUR LE PROFESSEUR DEBRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GOUGEROT

MONSIEUR LE PROFESSEUR GUILLAIN

MONSIEUR LE DOCTEUR DEVRAIGNE

Accoucheur des Hôpitaux

MONSIEUR LE DOCTEUR GUTTMANN

Médecin des Hôpitaux

INTRODUCTION

Les études poursuivies depuis 1929 par l'école danoise et l'école américaine ont mis en évidence l'importance d'un nouveau facteur alimentaire, la vitamine K, dans certains syndromes hémorragiques.

Notre but dans ce travail n'est pas de reprendre en détail l'étude de la vitamine K et des hémorragies dues à une déficience en prothrombine, qui ont déjà fait l'objet d'un certain nombre de travaux en France.

Nous nous proposons plutôt de comparer deux des principaux éléments de la coagulation : la prothrombine et la thromboplastine. Comparaison qui portera sur la nature et les propriétés physico-chimiques de ces deux facteurs, ou du moins, sur ce que les renseignements bibliographiques que nous avons eu et les recherches personnelles que nous avons pu faire sous la direction de notre Maître le Professeur FIESSINGER nous en ont appris.

Nous exposerons ensuite les caractéristiques de chacun des syndromes hémorragiques que l'on peut rattacher à une carence en l'un de ces deux facteurs.

Cette étude nous permettra de mettre davantage

en relief certaines conséquences thérapeutiques importantes sur l'emploi, strictement limité d'ailleurs, de la vitamine K comme substance anti-hémorragique, et de constater dans quelle mesure certains troubles de la coagulation que l'on peut rattacher à des perturbations de l'activité thromboplastique échappent encore à notre action thérapeutique.

CHAPITRE PREMIER

LA CONCEPTION ACTUELLE DE LA COAGULATION DU SANG.

Les théories de la coagulation du sang ont été nombreuses, se compliquant peu à peu, à mesure que des nouveaux faits apparaissaient que n'expliquaient pas les premières opinions émises.

Nous ne ferons pas ici l'historique des différentes hypothèses qui ont été formulées, nous indiquerons simplement la théorie actuellement admise, relativement simple, qui repose sur les travaux anciens de MORAWITZ, de NOLF et de BORDET et DELANGE.

Les recherches d'ARTHUS ont montré que la coagulation du sang ne pouvait avoir lieu sans l'intervention des sels de calcium. HAMMARSTEN a mis en évidence le fait que cette action du calcium porte sur la formation du ferment qui, ultérieurement, transforme le fibrinogène en fibrine, et non sur cette transformation même. On a donc été amené à admettre l'existence d'un proferment encore appelé zymo-

gène ou prothrombine par SCHMIDT. L'un des premiers, NOLF démontra que la prothrombine de SCHMIDT devait être dédoublée elle-même en deux substances, l'une appelée thrombogène (ou sérozyme de BORDET), l'autre thrombokinase (ou cytozyme). Ainsi, pour ces auteurs, la coagulation pourrait se ramener à ce schéma dans lequel nous indiquons les synonymes souvent utilisés :

1 Thrombogène	+	Thrombokinase	+	ca	=	Thrombine
Proferment		Cytozyme				Fibrin ferment
Sérozyme		Substance zymoplastique de Schmidt				
2 Thrombine	+	Fibrinogène			=	Fibrine

La coagulation nous apparaît alors comme un phénomène en deux temps : formation d'un ferment actif d'une part, transformation du fibrogène sous l'influence de ce ferment qui ne se forme qu'extemporanément lors de l'extravasation du sang, d'autre part.

Nous réviendrons sur la nature et les propriétés de chacun des deux premiers éléments qui font l'objet de notre travail sous les noms de prothrombine et de thromboplastine, tels que sont actuellement désignés le thrombogène et la thrombokinase.

Il semble que BORDET et DELANGE aient, les premiers, réussi à isoler ces deux substances et à produire in vitro de la thrombine.

La localisation de ces deux substances, dont les caractères se rapprochent de ceux d'un enzyme, a donné lieu à deux théories. La théorie dualiste dans laquelle le premier élément, le sérozyme ou pro-

thrombine, seul est dans le plasma, et le second, thromboplastine, inclus dans les leucocytes et les plaquettes qui ne laissent diffuser cette substance que s'il y a irritation ou lorsque le sang est extravasé hors de l'organisme.

La théorie uniciste, au contraire, défendue par NOLF, dans laquelle tous les éléments nécessaires à la coagulation sont en fait contenus dans le plasma et sont activés sous des influences physiques qui entraînent la rupture d'équilibre des colloïdes du sang.

Il semble que ces dernières années on ait admis la localisation dans les plaquettes et les leucocytes et d'une façon générale dans tous les tissus de l'organisme de la thromboplastine.

L'étude plus poussée de cette substance que l'on avait d'abord identifiée aux lécithines, puis à la céphaline, a montré que si la céphaline intervenait en tant que lipoprotéide dans la coagulation du sang, il devait exister un élément à caractère d'enzyme encore très mal connu qui serait la thromboplastine proprement dite et qui a pu être extraite du plasma.

Quant au mécanisme de déclenchement de la coagulation sanguine, sur lequel l'accord est loin d'être fait, il est encore très mal connu. Les théories émises peuvent se ramener à deux types.

Dans l'une, l'action chimique est prépondérante, soit que l'on fasse intervenir une substance à caractère diastasique pour expliquer la libération de la thromboplastine, soit que l'on admette une modifi-

cation chimique de la prothrombine ou de la thromboplastine qui les rende aptes à réagir l'une sur l'autre pour former la thrombine.

Dans l'autre, ce sont les phénomènes physiques qui déclenchent la coagulation, en particulier par action de surface au contact des corps étrangers ou de substances à action thromboplastique, soit que cette action provoque une rupture de l'équilibre des colloïdes du sang comme dans la théorie de NOLF, soit qu'elle amène la libération de la thromboplastine par les plaquettes comme on l'admet dans la théorie dualiste.

Cependant, nous devons reconnaître que ces théories, malgré leur diversité, n'englobent pas tout le phénomène de la coagulation du sang, d'autres substances qui nous sont à peine connues interviennent pour retarder, entraîner ou modifier la coagulation. En particulier, à côté de la thrombine, il existe une antithrombine ou héparine d'origine vraisemblablement hépatique et dont nous ne faisons encore qu'entrevoir l'activité.

Ainsi donc, si le problème de la coagulation est posé de façon plus précise, son mécanisme initial est encore inconnu et c'est faute de le connaître que certains syndromes hémorragiques graves, comme l'hémophilie, échappent encore, ainsi que nous le verrons plus loin, à notre action thérapeutique.

Pourtant, il nous semble que ces deux théories chimique et physique, doivent s'intriquer, l'action des surfaces de contact des récipients dans lesquels on recueille le sang, est trop connue pour qu'il soit néces-

saire d'y insister ici, et pour nier l'influence considérable des facteurs physiques sur le déclenchement de la coagulation. D'autre part, certaines expériences, que nous étudierons avec la thromboplastine, permettent de penser à l'action déclanchante d'un facteur chimique voisin des Enzymes dont l'absence entraînerait une résistance spéciale à la coagulation.

Quant aux théories dualistes ou unicistes, il nous semble personnellement que l'on doive se rapprocher plutôt de la première, l'influence des leucocytes et des plaquettes en particulier sur la coagulation est trop manifeste pour qu'on la rejette. Est-ce à dire qu'en l'absence de toute cellule un plasma ne puisse coaguler ? Cette affirmation nous paraît également trop catégorique, en tout cas bien difficile à établir, car quelles que soient les précautions prises pour recueillir le sang, il y a toujours quelques cellules qui sont lésées et laissent diffuser les substances qu'elles contiennent dans le plasma, avant qu'il ait été possible de les éliminer.

Enfin, quelle valeur faut-il accorder au schéma de la coagulation que nous reproduisons ci-dessous tel qu'il est formulé aujourd'hui ?

- 1) Prothrombine + Ca + Thromboplastine = Thrombine
- 2) Fibrinogène + Thrombine = Fibrine.

Il est évident que la prothrombine, la thromboplastine sont encore trop peu connues pour qu'on puisse leur accorder la valeur de corps existant réellement, et rien ne nous permet d'affirmer que l'une des deux

ou les deux ne seront pas à leur tour dédoublées ou remplacées. Il faut toutefois remarquer que ce schéma permet de diviser les troubles de la coagulation en un certain nombre de catégories assez nettement définies et si les troubles dus au calcium et au fibrinogène apparaissent comme très rares en clinique, il existe par contre des syndromes hémorragiques que l'on peut rattacher nettement à une déficience de la prothrombine dans certains cas, ou de la thromboplastine dans d'autres.

Aussi croyons-nous que s'il faut se garder de donner aux mots prothrombine et thromboplastine, un sens concret et absolu, il n'en est pas moins vrai que la notion en a été féconde, et que dans le domaine clinique, à qui revient, en dernier analyse, le rôle prépondérant, ils correspondent à deux catégories de syndromes nettement délimités.

C'est pourquoi nous les étudierons en cherchant à préciser leur nature et leurs propriétés, sans que la précision des termes que nous employons leur fasse attribuer un caractère qu'il nous paraît encore très prématuré de leur donner en l'état actuel de nos connaissances.

CHAPITRE II

LA PROTHROMBINE

ORIGINE, NATURE ET PROPRIÉTÉS.

Pendant longtemps on a pensé que le rôle du foie dans la coagulation était limité à la production du fibrinogène. Les travaux de DOYON en 1905, repris et confirmés par WHIPPLE et HURWITZ en 1911 et enfin par FORSTER et WHIPPLE en 1922, avaient appuyé et répandu cette opinion. Les travaux récents de LIAN et ses collaborateurs sur la fibrinémie des hépatiques ont d'ailleurs confirmé encore ce mode d'intervention du foie. Mais ce rôle n'est pas unique et, à côté du fibrinogène, le foie intervient, et de façon plus sensible encore, par l'élaboration de la prothrombine. C'est, semble-t-il, à SMITH, WARNER et BRINKHOUS en Amérique, que revient le mérite d'avoir démontré l'origine hépatique de la prothrombine. Ils utilisèrent une double technique, celle de l'intoxication par le chloroforme, et celle de l'hépatectomie partielle. Dans une première série d'expériences ils soumettent des

chiens à une narcose chloroformique prolongée ou leur font ingérer de petites doses de chloroforme, répétées pendant 30 à 60 jours. Ils observent l'apparition d'un ictère et notent une chute progressive de la prothrombine et du taux de fibrinogène pendant les jours ou les heures qui suivent. Lorsque l'intoxication est faible, le taux de fibrinogène est peu touché, alors que la prothrombine a déjà considérablement baissé. Puis le taux de ces deux substances augmente à nouveau avec le rétablissement du fonctionnement hépatique.

Mais le chloroforme pourrait léser également d'autres organes, c'est afin d'éviter cette cause d'erreur que WARNER a pratiqué chez le rat l'hépatectomie partielle. Enlevant environ 60 % de la totalité de l'organe il constate 6 h. après l'opération un abaissement notable de la prothrombine dans le sang, qui atteint son maximum au bout de 24 h. La réascension débute entre le 3^e et le 6^e jour pour revenir à son taux normal entre le 10^e et le 21^e, époque à laquelle le foie a repris également son fonctionnement normal.

Cette observation est d'ailleurs confirmée par l'existence du syndrome hémorragique des hépatiques sur lequel nous reviendrons plus loin, et qui se caractérise par une chute du taux de prothrombine, suivie d'ailleurs bien souvent de celle du fibrinogène.

Si l'origine hépatique de la prothrombine est actuellement bien établie, nous ne savons, par contre, à peu près rien de sa nature. Elle se présente à nous comme attachée aux globulines du plasma qu'elle

suit dans la plupart des réactions de précipitation. Toutefois, il semble ne s'agir ici que d'un simple phénomène d'absorption ainsi que le prouve le fait mis en évidence par QUICK et de nombreux auteurs, de la disparition de l'activité de la prothrombine d'un plasma mis en présence d'une petite quantité d'hydroxyde d'alumine « qui se comporte comme un agent exceptionnellement doux et ne paraît causer aucune perturbation du plasma ». Il en est de même lorsqu'on agite à 37° pendant 1 heure le plasma en présence de charbon actif.

Il est possible de préparer des solutions ayant une grande activité en prothrombine. Différentes techniques ont été proposées, nous indiquerons ici celles dont nous avons fait usage et qui sont à quelques variantes près, celles décrites par DAM et ses collaborateurs en 1936. Ces préparations sont toutes basées sur la précipitation de la partie globulinique des albumines du plasma. Nous avons surtout utilisé la méthode à l'acétone : 4 cm³ de plasma oxalaté sont mélangés à 4 cm³ d'acétone pure à basse température (de 0 à plus 5°). On centrifuge le précipité en ayant soin d'éviter l'élévation de température ; après décantation le précipité est lavé à l'acétone puis à l'éther, on le redissout ensuite dans 4 cm³ d'une solution de chlorure de sodium à 8,0/100. On laisse à température du laboratoire pendant 2 heures en agitant fréquemment, puis on centrifuge à nouveau pour éliminer les particules de précipité insolubles. On obtient ainsi une solution de prothrombine d'une

activité comparable à celle du plasma dont on est parti. Cette solution peut être conservée plusieurs jours en ampoules scellées à la glacière. Nous avons également obtenu des préparations actives à partir du plasma desséché dans le vide à 0°. Enfin, on peut précipiter par l'acide acétique pur à 1 % à 0° avec un pH de 5,3. Le précipité étant ensuite traité comme plus haut. On a également préconisé (WARNER, BRINKHOUS) la précipitation des globulines du plasma par le sulfate d'ammoniac ; mais cette méthode nous a paru moins bonne que la méthode à l'acétone. Les préparations ont été ensuite essayées en se basant sur le schéma de la coagulation que nous avons déjà donné.

Prothrombine + Ca + thromboplastine = thrombine
Fibrinogène + thrombine = fibrine

D'après ce schéma la vitesse de coagulation dépend de la concentration en prothrombine et en thromboplastine.

Un plasma normal oxalaté est traité par l'hydroxyde d'alumine pour le débarrasser de la prothrombine qu'il contient, on s'assure qu'il ne coagule pas par addition de calcium. On mélange alors ce plasma à parties égales avec la préparation de prothrombine à examiner ; puis on détermine la quantité de préparation de thromboplastine (cf. chapitre suivant) qu'il faut ajouter pour obtenir le temps de coagulation le plus court possible sans qu'il y ait un excès de thromboplastine. La quantité de cette substance ajoutée donne une mesure de l'activité de la prépa-

ration de prothrombine. Comparativement avec le plasma initial contenant 100 % de prothrombine, les préparations nous ont donné des chiffres variant de 50 à 80 %.

Les liquides, acétone et éther, ayant servis au lavage du précipité, ont été évaporés, le résidu repris par l'eau salée à 8,5/1000 s'est montré sans activité au point de vue prothrombine.

Il faut noter la nécessité d'exécuter toutes les préparations de prothrombine à basse température. La prothrombine est en, effet, thermolabile, un plasma porté à 56° perd une partie notable de son activité qui disparaît totalement à 70-80°. Au cours des manipulations nécessaires à sa préparation, cette substance apparaît particulièrement instable et si l'on ne prend pas les précautions nécessaires, une partie importante de l'activité disparaît au cours de la préparation. De ces expériences il résulte que la prothrombine apparaît comme une substance protéique thermolabile attachée aux globulines du plasma, soluble dans l'eau salée, elle est insoluble dans les solvants des lipoides, enfin elle semble assez facilement adsorbable.

Les différentes expériences faites par de nombreux auteurs et par nous-même ont montré que la prothrombine se trouve dans le plasma et non dans les éléments figurés du sang. Des extraits de globules rouges, de leucocytes ou de plaquettes ont toujours été privés de toute activité.

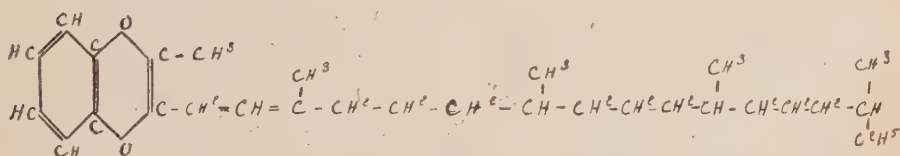
La prothrombine se trouve dans le plasma à un

taux qui est relativement fixe pour une espèce animale donnée. Pourtant, certains auteurs ont signalé qu'après un repas riche en graisses, alors que l'on observait une forte lipémie, la teneur du plasma en prothrombine était augmentée. Cette observation pose un problème des plus intéressant. En effet, nous avons vu que la prothrombine était insoluble dans les solvants des lipoïdes ; pourtant, après les observations de DAM, on doit reconnaître que le taux de cette substance dans le sang peut être considérablement diminué lorsqu'on soumet un animal à un régime dépourvu d'un facteur liposoluble, appelé par DAM, vitamine K.

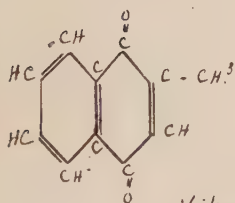
Il sort du cadre de ce travail de reprendre les expériences de DAM sur la maladie hémorragique du poulet. Disons seulement qu'un jeune poulet soumis à un régime dépourvu de ce facteur présente en 3 à 4 semaines des hémorragies multiples dues à une baisse de la prothrombinémie. Vient-on à rendre à l'animal la vitamine absente, on observe rapidement la disparition des hémorragies avec la réascension du taux de la prothrombine. Dans ces conditions, il semble que l'action favorisante d'une lipémie élevée sur l'activité de la prothrombine soit simplement la traduction d'une absorption plus considérable de vitamine K avec les lipoïdes, absorption qui entraînerait l'élaboration par le foie d'une quantité supplémentaire de prothrombine.

Quels sont maintenant les rapports de la vitamine K et de la prothrombine ?

La vitamine K est une naphtoquinone comportant une chaîne latérale. Différentes formules chimiques ont été proposées dont l'étude est en dehors de notre travail. Disons seulement que l'on prépare actuellement par synthèse une 2méthyl-1-4 naphtoquinone douée d'une grande activité.



Vitamine naturelle. 2 méthyl-3 phytyl-1-4 naphthoquinone



Vitamine de synthèse (qui n'a à action vitaminique)

2 méthyl-1-4. naphthoquinone

Il semble que la vitamine naturelle soit la 2méthyl 3phytyl-1-4 naphthoquinone. Cette vitamine se trouve en assez grande quantité dans les choux, l'épinard, la tomate et surtout l'alfalfa d'où on l'a primitivement extraite. La chair de poisson *putréfié* constitue une excellente source de vitamine K d'où on peut l'extraire par l'éther de pétrole ; il reste après évapo-

ration un résidu huileux doué d'une grande activité dans la maladie hémorragique du poulet. Ce fait met en évidence l'action synthétique des microbes vis-à-vis de la vitamine K, action sur laquelle nous reviendrons.

Nos connaissances sur la prothrombine sont malheureusement encore trop réduites pour pouvoir établir le rapport qui existe entre ces deux substances. La vitamine K intervient-elle dans l'élaboration de la prothrombine comme catalyseur de la réaction, ou bien entre-t-elle dans la constitution chimique de la prothrombine ? C'est ce à quoi nous ne pouvons répondre actuellement.

Si l'on étudie de plus près l'action de la vitamine K, on s'aperçoit que le foie joue un rôle non seulement dans l'élaboration de la prothrombine, mais encore dans l'absorption de la vitamine au niveau de l'intestin par la présence de la bile. Si l'on crée en effet chez l'animal, ainsi que l'ont fait de nombreux auteurs, une fistule biliaire, on observe une baisse progressive du taux de la prothrombine. Mais si l'on ajoute au régime contenant de la vitamine K, une petite quantité de sels biliaires, on voit peu à peu la prothrombine revenir à la normale. La pathologie vient d'ailleurs confirmer l'expérimentation en nous montrant la cause des hémorragies que l'on peut observer dans les ictères par rétention : hémorragies dues à une baisse de la prothrombinémie par défaut d'absorption de la vitamine K.

Il est bien évident que cette absorption ne pourra

se faire convenablement que si la muqueuse intestinale est normale, en particulier au niveau de sa partie terminale.

De sorte que, finalement, une prothrombinémie normale exige : — une fonction biliaire normale dans sa sécrétion et dans son élimination, — une surface d'absorption intestinale également normale — enfin un parenchyme hépatique capable de faire la synthèse de la prothrombine à partir de la vitamine K qui lui est fournie. Ce dernier facteur est important car il est évident que dans un ictère grave terminant une cirrhose par exemple, l'administration de vitamine K au malade restera sans effet, le parenchyme hépatique étant alors devenu incapable de transformer la vitamine K. Nous reviendrons d'ailleurs sur cette notion en envisageant la question thérapeutique.

Le régime alimentaire normal contient une quantité suffisante de vitamine K, d'autant plus qu'il semble que les mammifères soient capables par leurs bactéries intestinales, d'en faire la synthèse. GREAVES et SCHMIDT ont montré en effet que la carence seule chez le rat ne suffit pas pour entraîner une baisse sensible du taux de la prothrombine, et qu'il était nécessaire de lier en même temps le cholédoque pour obtenir ce résultat. Ils constatèrent en outre qu'il suffisait de rendre à l'animal une petite quantité de sels biliaires, sans changer le régime, pour voir la prothrombinémie augmenter. Il semble que l'on puisse rattacher cette faculté de

synthèse à la flore microbienne intestinale que possèdent les mammifères. Expérimentalement, en effet, des cultures microbiennes desséchées, en particulier des cultures de collibacilles, ont montré une grande activité antihémorragique chez des poulets carencés en vitamine K.

De ce fait, on peut dire qu'il n'existe pas chez l'homme de carence en vitamine K isolée, sans association de lésions hépatiques ou intestinales.

En résumé la prothrombine nous apparaît comme une substance présentant certains caractères diastatiques, thermolabile, pouvant être adsorbée, accrochée à la partie globinique des albumines du plasma ; élaborée à partir de la vitamine K par le foie ; ayant un rôle certain dans la coagulation du sang, qui sans elle ne se produit pas. Là s'arrêtent nos connaissances actuelles, sa nature chimique si elle peut être soupçonnée, voisine de celle des globulines, nous est encore pratiquement inconnue.

LES MÉTHODES DE MESURE DE LA PROTHROMBINE.

Malgré l'état peu avancé de nos connaissances sur la prothrombine, nous disposons pourtant de différents moyens pour en apprécier, au moins approximativement la valeur, c'est l'exposé de ces méthodes de mesure que nous entreprendrons maintenant.

C'est à QUICK que revient le mérite d'avoir mis au point une technique simple de dosage, facilement

adaptable à la clinique. Nous verrons à la fin de ce chapitre que la quantité de prothrombine contenue dans le plasma est de beaucoup supérieure à l'état normal, à celle utilisée lors de la coagulation ; une très petite quantité de thrombine étant nécessaire pour la provoquer. Par contre, si l'on ajoute un excès de thromboplastine, en présence d'une quantité optima de calcium, toute la prothrombine sera alors utilisée et transformée en thrombine : dans ces conditions, le temps de coagulation sera indépendant de la quantité de thromboplastine libérée et dépendra de la prothrombine du plasma à étudier. QUICK a en effet montré que pour un certain taux, toute addition nouvelle de thromboplastine ne raccourcissait plus le temps de coagulation.

On obtient la thromboplastine à partir de cervelle de lapin, soit utilisée en émulsion fraîche à 10 %, soit sous forme de poudre de cervelle desséchée; nous y reviendrons en étudiant la thromboplastine.

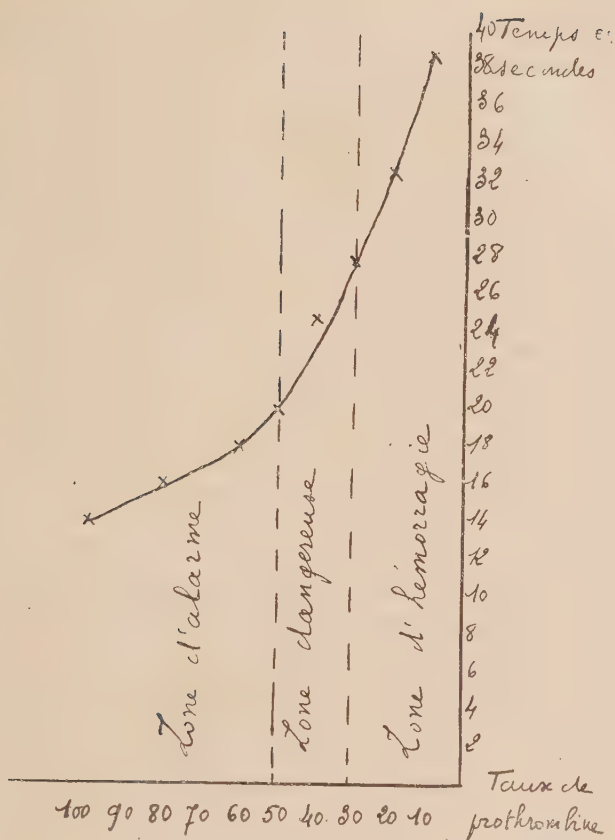
Le taux optimum de calcium varie très légèrement d'un individu à l'autre, toutefois on peut admettre sans erreur appréciable qu'il doit atteindre finalement la concentration de $\frac{M}{1.0}$.

Pour établir le temps de QUICK, on recueille par ponction veineuse au pli du coude, 9 cc. de sang que l'on mélange aussitôt avec un centimètre cube d'oxalate de soude $\frac{10}{M}$

Après centrifugation on prélève 0,1 cc. de plasma

que l'on verse dans un petit tube à hémolyse soigneusement débarrassé de toute trace de matière organique par le mélange sulfo-chromique puis lavé et séché. On ajoute ensuite 0,1 cc. de solution aqueuse de thromboplastine et enfin 0,1 cc. de la solution de chlorure de calcium $\frac{40}{M}$. On agite et on plonge aussitôt le tube dans un bain-marie à 40°. La coagulation se produit très rapidement en dix à quinze secondes suivant la préparation de thromboplastine utilisée, et de façon très brutale de sorte qu'elle est des plus facile à apprécier. On répète ces opérations avec un plasma normal qui fournit alors le temps de coagulation correspondant à un taux de prothrombine de 100 %. On dilue ensuite ce plasma pour obtenir une courbe d'étalonnage. Cette dilution peut se faire avec une solution de NaCl à 0,85 %. Différents auteurs ont en effet montré que le taux de fibrinogène n'intervenait pas ici. Nous-même avons contrôlé ce fait et observé que seule la consistance du caillot était modifiée. Dans ces conditions on obtient une courbe de la forme de celle que nous reproduisons ici, et sur laquelle il est facile en reportant le temps de coagulation obtenu pour le plasma à étudier de trouver le taux de prothrombine contenu dans ce plasma. Toutefois, la préparation de thromboplastine étant ins-
tefois, la préparation de thromboplastine étant ins-
un plasma normal cette préparation.

En outre, on remarquera que la première partie de la courbe est d'interprétation délicate, les diffé-



rences de temps de coagulation étant minimales ; mais on peut y remédier, lorsque cela est nécessaire, en diluant de moitié le plasma à étudier ; on est alors ramené dans la partie sensible de la courbe et la précision est plus grande. Pratiquement, on aura rarement besoin d'y recourir, les taux de prothrombine compris entre 50 % et 100 % étant sans répercussion clinique appréciable et ne nécessitant pas de ce fait une précision très grande.

Ainsi utilisée cette méthode donne des indications suffisantes sur le taux de prothrombine, elle ne nous apparaît cependant pas comme parfaite. En effet, le temps de QUICK englobe les deux phases de la coagulation, c'est-à-dire le temps de transformation de la prothrombine en thrombine, auquel vient s'ajouter celui de la transformation du fibrinogène en fibrine sous l'action de la thrombine. La prothrombine n'intervient donc pas seule ici, une perturbation de la seconde phase de la coagulation pourra venir fausser les résultats.

C'est pourquoi WARNER, BRINKHOUS et SMITH ont proposé une méthode plus précise, dans laquelle les deux temps de la coagulation sont effectués séparément en défibrinant le plasma à étudier. Cette défibrination est faite en utilisant de la thrombine préparée comme il suit.

A un cm³ de plasma quelconque citraté on ajoute 6 gouttes d'eau salée à 0,85 %, 3 gouttes d'une solution de chlorure de calcium contenant 0,50 gr. de CaCl² et 0,525 gr. de NaCl pour 100 cc., et enfin quelques gouttes d'extrait thromboplastique préparé à partir de poumon de chien. Après coagulation, le sérum exsudé du caillot est riche en thrombine. On l'utilise aussitôt pour défibriner le plasma à étudier. 30 gouttes de ce plasma sont traitées par 3 gouttes de thrombine, on laisse reposer 15 minutes, puis on sépare la fibrine. Le liquide résiduel est alors dilué au 1/20, 1/30 et 1/40 avec une solution saline à 0,9 %.

contenant 75 milligrammes d'oxalate de soude pour 100 cc. d'eau.

Pour la recherche du taux de prothrombine, on mélange 3 parties de chacune des dilutions ainsi obtenues avec 3 parties de la solution de calcium et 3 parties de la préparation aqueuse de thromboplastine (0,3 gr. d'extrait sec de poumon de chien dans 10 cc. de solution saline à 0,9 % et centrifugation). On laisse au repos quelques minutes, puis à 12 gouttes de cette préparation on ajoute 9 gouttes d'une préparation de fibrinogène (obtenue par précipitation d'un plasma par le sulfate d'ammoniac à saturation, purification par dialyse et redissolution dans la solution saline précédemment indiquée). Le temps de coagulation est mesuré au chronomètre.

Dans ces conditions, les dilutions finales du plasma à étudier sont respectivement de $\frac{1}{149}$, $\frac{1}{97}$ et $\frac{1}{223}$

On cherche à établir la dilution qui, à 28° coagule la solution de fibrinogène en 15 secondes.

Le taux est alors exprimé en unités de prothrombine par rapport à la dilution utilisée. Celle-ci est normalement de $\frac{1}{223}$; on dit alors que le taux de prothrombine est de 223 unités.

Cette méthode reste pour nous la méthode, de beaucoup, la plus précise pour apprécier le taux de la prothrombine. Toutefois, en raison de sa complexité, elle exige une technique sûre et ne peut être confiée à une personne inexpérimentée. Certaines

causes d'erreur peuvent, en effet, se glisser lors des manipulations nécessaires à la préparation de la thrombine et du fibrinogène. A propos de la préparation de cette dernière substance, signalons la nécessité absolue de traiter, avant la précipitation par $\text{SO}^+ (\text{NH})^2$, le plasma par l'hydroxide d'aluminium (alumine hydratée), pour éviter l'entraînement de la prothrombine lors de la précipitation du fibrinogène. Il est en outre nécessaire d'éliminer totalement par une dialyse soigneuse et prolongée, toute trace de $\text{SO}^+ (\text{NH})^2$, dont la présence provoquerait, ainsi que nous avons pu le contrôler, un retard sensible de la coagulation, faussant ainsi les résultats. Toutefois, ces conditions d'exécution mises à part, pensons-nous que, chaque fois que l'on voudra obtenir des résultats quelque peu précis, c'est à cette méthode qu'il faudra de préférence s'adresser.

A l'opposé de cette épreuve compliquée, SMITH et ses collaborateurs ont proposé un test des plus simples, réalisable au lit du malade. Le prélèvement se fait de la façon suivante : on verse dans un tube à hémolyse, 0,1 cc. de préparation de thromboplastine, on complète ensuite à 1 cc. avec le sang du malade ; on agite en renversant une fois le tube et on note le temps de coagulation à la température de la pièce. On recommence ensuite la même opération avec le sang d'un sujet normal. Le taux de prothrombine est donné par la formule :

$$\frac{\text{Temps de coagulation du sujet normal}}{\text{Temps de coagulation du malade}} \times 100$$

Ce test est entaché de nombreuses causes d'erreur, en particulier la présence des cellules sanguines qui, ainsi que nous avons pu nous en apercevoir, retardent parfois la coagulation. Cette méthode extrêmement simple a toutefois l'avantage de ne nécessiter aucun matériel spécial, aucune manipulation compliquée, elle peut être exécutée partout et par n'importe qui, tout en donnant une idée des troubles de coagulation présentée par le malade.

Dans la même série des méthodes que l'on pourrait appeler biologiques, signalons une micro-méthode mise au point par FIECHTER et également par KATO. Ce test ne nécessite qu'une très petite quantité de sang que l'on recueille par piquûre au bout du doigt.

On aspire dans une pipette jaugée à 0,15 cc., une partie de solution d'oxalate de soude $\frac{M}{40}$ et 9 parties de sang. On projette le tout dans un petit verre de montre de 15 mm. de diamètre, placé sur un bain-marie à 38-40°, on ajoute alors successivement 0,15 cc. de préparation de thromboplastine et 0,15 cc. d'une solution de chlorure de calcium $\frac{M}{10}$, comme dans la technique de QUICK. On agite le mélange et on note le temps de coagulation. Les quantités utilisées étant très petites, il est nécessaire de chauffer au préalable à 38° les solutions employées.

Cette méthode encore moins précise que la précédente, a le gros avantage de ne nécessiter qu'une quantité de sang très réduite et permet de ce fait des dosages répétés aussi souvent qu'on le désire. Elle est particulièrement intéressante chez le nourrisson à qui il est toujours difficile de prendre de façon fréquente une certaine quantité de sang.

D'autres variantes de la technique de QUICK ont encore été proposées qui n'apportent pas de précision ou de facilité plus grande à la méthode et que nous passerons sous silence.

Rappelons toutefois ici le test de HOWELL, décrit également par Marcel BLOCH. Il consiste dans l'étude de la coagulation du plasma simplement recalcifié. C'est à tort, à notre avis que l'on place cette méthode parmi celles qui mesurent le taux de prothrombine ; elle n'a, pour nous, guère plus de valeur que l'étude de la coagulation pour l'appréciation de ce taux. Une démonstration facile peut en être donnée par l'étude de ce test dans l'hémophilie où il n'y a pas de trouble de la prothrombine et où cependant on trouve un temps de HOWELL très allongé.

Dans cette épreuve, en effet, comme celle de la coagulation, non seulement on mesure les deux phases de la coagulation à la fois, ce qui constitue une première source d'erreur, mais en outre on ne tient compte que du temps de transformation de la prothrombine *utilisée* et non de la quantité *totale* de cette substance. Or les travaux de BRINKHOUS et ses

collaborateurs, par la méthode indiquée plus haut ont montré que la quantité de prothrombine contenue dans le plasma est environ 200 fois supérieure au taux nécessaire pour obtenir la coagulation du fibrinogène en 15 secondes. C'est dire là cause d'erreur considérable qui est introduite, lorsqu'on ne tient pas compte de cette notion comme dans le cas du test de HOWELL ; erreur à laquelle vient s'ajouter la possibilité d'un trouble de la thromboplastine que l'on ne peut déceler dans ces conditions.

A côté de ces méthodes et basée sur un principe bien différent vient se placer celle de P. MEUNIER. Méthode déjà écrite par LIAN et ses collaborateurs pour la mesure de la fibrinémie et que l'auteur a pu adapter à la mesure du taux de prothrombine du plasma.

Elle consiste dans l'appréciation photométrique de l'opacification progressive du plasma au cours de la coagulation. Cette opacification, après un certain temps de latence, croît régulièrement jusqu'à un maximum qui correspond à la transformation de tout le fibrogène en fibrine.

On prélève 9 cc. de sang veineux au pli du coude que l'on mélange aussitôt à 1 cc. de citrate trisodique pur à 4 %. Le plasma est recueilli par centrifugation. On verse ensuite dans une cuve à faces parallèles de 10 mm. d'épaisseur, 1 cc. de plasma, auquel on ajoute 0,25 cc. de chlorure de calcium $\frac{M}{10}$ et 3,75 cc.

d'eau salée à 9 0/00. Après agitation on mesure à l'opto-photomètre la transparence du mélange, que l'on note de 1/2 minute en 1/2 minute.

Au début de la réaction, l'opacité reste constante pendant un certain temps qui constitue le temps de latence, puis celle-ci augmente brusquement avec l'apparition des premières fibrilles de fibrine. La courbe devient alors ascendante pour atteindre quelques minutes après un plateau où elle s'infléchit pour devenir à nouveau horizontale.

Nous ne retracerons pas ici les calculs qui ont permis à P. MEÜNIER d'établir le rapport qui définit le taux de prothrombine. Disons seulement que l'on détermine le temps Δt nécessaire à l'obtention d'un accroissement minime de l'opacité et correspondant à la formation d'un milligramme de fibrine. Connaissant, d'autre part, le temps de latence t , on établit le rapport $R = \frac{\Delta t}{t}$.

Un grand nombre de déterminations ont montré à l'auteur que le rapport R était indépendant du taux de fibrogène et de thromboplastine, et qu'au contraire R était inversement proportionnel au taux de prothrombine, ainsi que le montraient de nombreuses comparaisons avec la méthode de QUICK.

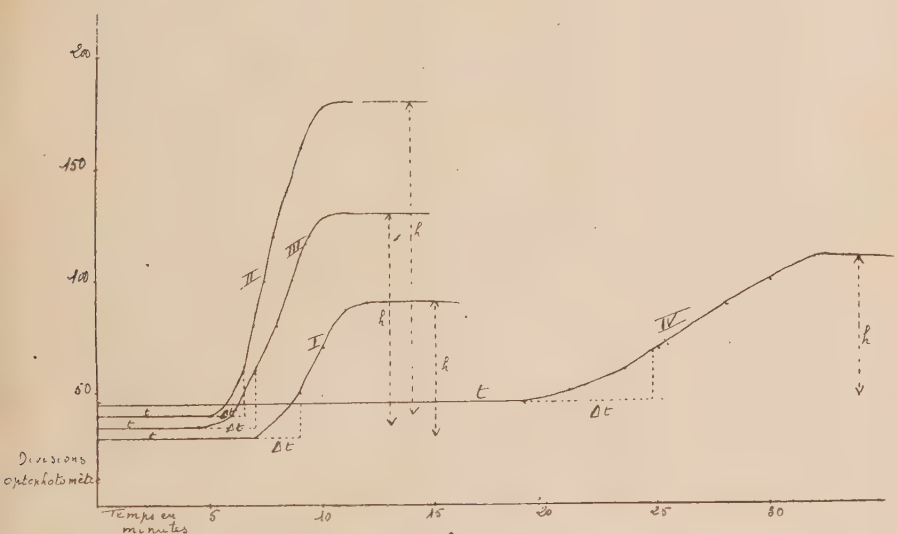
Normalement R est compris entre 0,10 et 0,30.

Cette méthode de mesure de la prothrombine a le gros avantage de ne pas nécessiter de préparation de thromboplastine, difficile à préparer et à conserver et dont l'étalonnage est toujours délicat. Elle

exige par contre un matériel coûteux et ne peut être exécutée qu'au laboratoire.

En outre, elle permet d'apprécier deux éléments des plus intéressants, autres que la prothrombine : la fibrine et la thromboplastine.

Considérons les courbes ci-contre, on remarque



Courbe I : $t=7$ $\Delta t=1,5$ $R=0,18$ $h=60$ Prothrombine : 100%	Fibrine : 3% par litre normal
Courbe II : $t=5$ $\Delta t=0,8$ $R=0,16$ $h=140$ Prothrombine : 100%	Fibrine : 7% " " "
Courbe III : $t=4,5$ $\Delta t=2,2$ $R=0,48$ $h=95$ Prothrombine : 20%	Fibrine : 4,5% " " "
Courbe IV : $t=19$ $\Delta t=5$ $R=0,26$ $h=60$ Prothrombine : 100%	Sang hémo-phile

que la hauteur d'ascension de la courbe est variable, Ainsi que l'ont montré LIAN et ses collaborateurs, cette hauteur h est fonction de la teneur du plasma en fibrine. D'autre part le temps de latence t est normalement de 6 à 8 minutes, toutefois comme on peut l'observer sur une des courbes correspondant à un

plasma hémophile, ce temps de latence peut être considérablement allongé. Différentes observations ont montré à MEUNIER que ce temps était en rapport avec l'activité thromboplastique du plasma. Fait confirmé par l'allongement observé dans l'hémophilie, où, comme nous le verrons plus loin, il faut incriminer un trouble de la thromboplastine pour expliquer le retard de la coagulation. Confirmé également par l'observation du retour à la normale de cette courbe lorsqu'on ajoute une petite quantité de thromboplastine.

Quelle valeur faut-il attribuer à cette méthode de dosage dont nous venons de voir les avantages par les nombreux renseignements qu'elle est susceptible de fournir ?

Notre expérience est encore trop récente pour qu'il nous soit possible de nous prononcer de façon définitive. Les comparaisons que nous avons pu faire avec la méthode de QUICK, se sont le plus souvent montrées satisfaisantes ; nous nous demandons pourtant s'il existe dans tous les cas une correspondance rigoureuse. Nous avons, en effet, observé dans quelques cas des divergences sensibles entre les résultats fournis par la méthode de MEUNIER et ceux que nous obtenions par les autres méthodes ; sans qu'il nous soit actuellement possible de trouver une explication satisfaisante de ces divergences.

D'autre part, le fait que, normalement R oscille entre 0,10 et 0,30, apporte une indétermination de départ un peu gênante, indétermination qui, comme

dans la méthode de QUICK, s'atténue à mesure que R augmente, c'est-à-dire avec la baisse de la prothrombine.

Pourtant, dans l'ensemble et jusqu'à plus ample expérimentation, cette méthode nous paraît assez satisfaisante et reste précieuse par les renseignements supplémentaires qu'elle nous donne et que ne nous fournissent pas les autres méthodes. Nous pensons toutefois qu'il est nécessaire d'en contrôler les résultats, au moyen d'une des autres méthodes.

De l'étude de ces méthodes il se dégage la même impression d'instabilité et d'incertitude que celle de la prothrombine elle-même, en rapport d'ailleurs avec l'état actuel de nos connaissances sur ce sujet.

Pourtant, cliniquement, chez l'homme et même chez l'animal, en prenant les précautions indiquées pour chaque méthode, en contrôlant l'une par l'autre, ces mesures peuvent rendre de grands services. Il ne faut pas toutefois leur demander une précision qu'elles ne peuvent donner. Elles doivent être surtout utilisées comme des tests de comparaison entre le sujet sain et le malade.

Ces réserves faites, quels sont les résultats obtenus ?

Nous avons déjà indiqué la constance du taux de prothrombine pour une espèce donnée et dans les mêmes conditions. Les travaux de WARNER, BRINKHous et SMITH ont montré que, même après des hémorragies répétées, avec ou sans réinjection des

globules, on n'observait pas de baisse sensible du taux de la prothrombine chez le chien.

Ces auteurs ont également mis en évidence, grâce à leur méthode personnelle, que la quantité de prothrobine du plasma était sensiblement 200 fois supérieure à la quantité minima requise pour obtenir la coagulation.

BRINKHOUS a, en outre, titré la prothrombine d'un plasma au cours de la coagulation faite à la température du laboratoire ; cette substance baisse progressivement mais ne disparaît pas complètement et on en retrouve une quantité importante dans le sérum.

Si l'on compare les taux de prothrombine observés chez l'animal et chez l'homme, on constate que le plasma de lapin contient 5 à 6 fois plus de prothrombine, et que le plasma du chien en contient 8 à 9 fois plus que le plasma humain (1).

Chez l'homme la prothrombinémie est également assez constante. Toutefois, chez le nouveau-né, différents auteurs, dont NYGAARD, ont signalé un taux de prothrombine normal à la naissance suivi d'une hypoprothrombinémie physiologique et passagère du 2^e au 6^e jour après la naissance, puis retour progressif au taux normal qui n'est atteint que vers le 10^e mois. Si l'on ajoute au régime du nouveau-né une

(1) Des résultats différents ont été plus récemment fournis par SMITH, WARNER et BRINKHOUS, qui, par leur méthode n'ont trouvé, entre l'homme et le chien et le lapin, que de faibles différences de l'ordre de 10 à 20 %.

petite quantité de vitamine K on observe une hypoprothrombinémie moins marquée et de plus courte durée. La diathèse hémorragique du nouveau né apparaît dans ces circonstances comme l'exagération d'un phénomène physiologique.

Chez l'homme normal, la quantité de prothrombine est, comme chez l'animal, bien supérieure à la quantité minimum requise pour la coagulation ; aussi diviserons-nous la courbe du dosage en 3 zones : une zone indifférente, de 100 % à 50 %, une zone d'alarme de 50 à 30 %, une zone d'hémorragie au-dessous de 30 %. On voit que la zone d'alarme est déjà dans la partie sensible de la courbe de QUICK ainsi que nous l'avons fait remarquer.

La notion de la prothrombine, qui reste encore une hypothèse de travail, semble donc prendre une certaine réalité, elle semble correspondre à une déficience clinique assez bien établie, justiciable d'une thérapeutique active par la vitamine K. Faut-il maintenant donner une place plus grande, une réalité absolue à la prothrombine ? Nous ne le pensons pas encore. Les connaissances que nous avons de cette substance ne nous permettant pas de la définir exactement, il est encore nécessaire d'être prudent et de ne pas donner à la prothrombine une valeur rigoureuse qu'elle n'a pas actuellement. Il en est de même, et plus encore, des méthodes de mesure qui ne tiennent pas compte d'un grand nombre de facteurs, tel l'antithrombine par exemple, tel aussi la partici-

pation de phénomènes physiques qui interviennent dans la coagulation du sang et dont nous ignorons à peu près tout. Il n'en reste pas moins que la déficience en prothrombine telle qu'elle nous est donnée par les méthodes utilisées correspond à un syndrome hémorragique bien délimité maintenant dans le cadre clinique. Ce côté restant actuellement le point le plus solide de la question.

CHAPITRE III

LA THROMBOPLASTINE

NOLF, l'un des premiers, avait pensé que la substance qui, sous l'action des sels de calcium, donnait naissance à la thrombine devait être décomposée en deux éléments : la prothrombine et la thromboplastine, alors désignée par lui sous le nom de thrombogène et de trombokinase.

Depuis, la thromboplastine a fait l'objet de nombreux travaux, tant en France qu'à l'étranger. Il semble pourtant que ce ne soit que dans ces dernières années que l'on ait pu parvenir à coordonner quelque peu les phénomènes observés, pour préciser la nature et les propriétés de ce facteur de la coagulation qui reste cependant très mal connu.

La thromboplastine, ou plus exactement les substances présentant une activité thromboplastique, ne sont pas, comme la prothrombine, limitées au plasma; toutes les cellules de l'organisme en fabriquent et en mettent en réserve. Dans le sang, elle est localisée

dans les leucocytes et surtout dans les plaquettes ; elle n'est libérée et ne passe dans le plasma qu'après la lyse de ces éléments.

La généralisation de la présence de la thrombo-plastine est mise en évidence par le fait que l'on peut préparer des extraits aqueux de n'importe quel tissu animal, toutes ces préparations se révèlent posséder un pouvoir thromboplastique très net.

Il est possible, ainsi que nous le verrons plus loin, de comparer les activités de ces différents extraits. On constate alors que les plus actifs proviennent de la substance cérébrale, puis du poumon et enfin du thymus.

Connaissant, d'autre part, l'action favorisante des phospho-liquides du groupe des lécithines et plus encore des céphalines sur la coagulation, on avait été frappé du fait que la substance cérébrale, contenant une grande quantité de céphaline, était l'organe qui fournissait l'extrait le plus actif. Et pendant quelque temps on identifia plus ou moins la thrombo-plastine à ces phospho-lipides. Opinion qui était appuyée par le fait que si l'on traitait un extrait actif par les solvants des lipoïdes, tels que l'éther ou l'éther de pétrole, on supprimait totalement l'activité, qui passait dans le filtrat où l'on pouvait la retrouver après évaporation.

En fait, cette opinion est erronée, et si, comme nous allons le voir, la céphaline joue un rôle dans la coagulation, il existe à côté d'elle une substance beaucoup plus fragile, douée d'une grande activité

qui, seule, mérite le nom de thromboplastine. Ce qui n'exclut d'ailleurs nullement le fait que d'autres substances puissent avoir une action plus ou moins grande dans la coagulation ; nous reviendrons sur cette notion.

La thromboplastine se présente comme une substance de nature vraisemblablement protéidique, liée à la céphaline. Elle est thermolabile, mais, avant purification, elle est moins fragile que la prothrombine. A tel point que l'on peut, par la chaleur, débarrasser de toute trace de prothrombine une préparation de thromboplastine, sans en diminuer notablement l'activité. Toutefois, lorsque l'on pousse un peu la purification, on s'aperçoit que la thermolabilité s'accroît et que, dans certains cas, un chauffage à 60° pendant 20 minutes, peut faire disparaître une grande partie de l'activité de l'extrait qui a été ainsi traité.

C'est en utilisant la méthode de QUICK que l'on a été amené à fabriquer des extraits possédant une activité thromboplastique considérable, et c'est de l'étude des procédés de préparation de ces extraits que ressortent le mieux, à notre avis, les propriétés de la thromboplastine. Aussi indiquerons-nous d'abord le mode de préparation que nous avons mis au point, après avoir essayé les différents procédés proposés par de nombreux auteurs et dont il ne constitue qu'une variante.

On utilise le cerveau de lapin fraîchement tué, que l'on débarrasse soigneusement de toute trace de mé-

ninges et de vaisseaux. On lave ensuite à l'eau salée à 90/00 jusqu'à ce que le liquide de lavage ait perdu toute teinte rosée et s'écoule limpide. Le cerveau est alors coupé en petits morceaux et broyé à travers un tamis très fin ; il se présente après cette opération, sous forme d'une bouillie homogène. Cette pâte est étendue en couche mince sur des plaques de verre et séchée dans le vide sulfurique le plus complet possible, à une température inférieure à 15°. En 36 à 48 h., la dessication est complète ; la substance cérébrale se présente alors sous forme d'une croûte adhérente au verre, de teinte brune. Ces croûtes sont détachées par grattage et broyées au mortier ; on obtient ainsi une poudre très fine. Celle-ci placée dans un extracteur du type de l'extracteur de Kumagawa est traitée par l'acétone pure pendant deux heures. L'opération est faite sous pression réduite pour obtenir l'ébullition à une température voisine de 35° environ. La poudre est ensuite séchée rapidement à l'air à la température du laboratoire. Bien souvent nous ne poussons pas plus loin la purification, la poudre est mise simplement en ampoules scellées contenant chacune 50 centigrammes du produit et mises à la glacière jusqu'à l'emploi. Dans ces conditions et avec une glacière dont la température est maintenue à 3° ou 4° au dessus de zéro, la préparation peut être conservée pendant 3 mois sans altération appréciable.

Il est possible cependant d'obtenir un produit plus pur, mais les manipulations qui suivent entraînent

toujours une perte assez sensible de thromboplastine, de ce fait l'activité n'est pas augmentée proportionnellement.

Après extraction par l'acétone, la poudre est reprise par l'eau salée à 9 0/00 à raison de un gramme de poudre pour 10 cm³ de solvant et laissée en contact pendant plusieurs heures en agitant constamment à une température comprise entre 20° et 30°. On sépare ensuite par centrifugation. Le résidu insoluble est lavé avec une petite quantité d'eau salée. L'eau de lavage est ajoutée au liquide surnageant, récolté par centrifugation. On mesure le volume de liquide et on dessèche dans le vide à température du laboratoire, le résidu sec est ensuite repris par un volume égal d'eau distillée qu'on laisse en contact pendant 5 à 6 heures à 20°. On centrifuge alors énergiquement, et on utilise le liquide limpide surnageant.

Pour conserver cette préparation on dessèche à nouveau et le résidu sec est mis en ampoules contenant 10 centigrammes de produit à utiliser en dissolution dans 6 cm³ d'eau distillée. Un tel extrait se montre très actif, mais sa conservation est difficile et de courte durée, il nous a servi surtout à obtenir une thromboplastine presque pure par dialyses successives dont l'étude sort du cadre de ce travail.

Si l'on reprend maintenant les différentes phases de cette préparation assez longue, on peut noter les caractères principaux de la thromboplastine qui nous orienteront vers sa nature.

Dans ses premières expériences, QUICK utilisait le cerveau de lapin simplement broyé et repris par l'eau salée à 9 0/00. Aussi l'une des premières propriétés que nous étudierons est la solubilité de la thromboplastine. Cette substance est, en effet, soluble dans l'eau salée, moins dans l'eau distillée. Si elle est entraînée dans les solvants des lipoïdes, ainsi que nous l'avons signalé, elle n'est pas touchée par l'acétone pure. Ce fait a été longtemps une confirmation de l'identité de la thromboplastine et de la céphaline; on sait, en effet, que celle-ci est insoluble dans l'acétone pure. Si ces deux substances ne sont pas identiques, elles nous apparaissent pourtant ici reliées l'une à l'autre.

On a pu remarquer les précautions prises, lors de l'extraction à l'acétone, pour éviter une trop forte élévation de température, nous avons observé, en effet, que si l'extraction se fait à 55° — 60°, la préparation est moins active et moins stable. En outre, lorsque l'on veut être sûr d'inactiver toute trace de prothrombine, on portera la pâte de cerveau avant la dessiccation, à 80° pendant 20 minutes, opération que l'on ne pourrait faire sur le produit final sans observer une diminution notable de l'activité thromboplastique de la préparation. La thromboplastine nous apparaît donc, comme thermolabile, pourtant une ébullition prolongée ne détruit pas complètement l'activité de la préparation.

Il semble que ce soit FERGUSSON qui, le premier, ait donné l'explication de ce phénomène. En effet,

si la thromboplastine est thermolabile, la céphaline ne l'est pas. Après ébullition, il reste cette substance dont on connaît l'action favorisante sur la coagulation, action que l'on peut d'ailleurs mettre en évidence en préparant de la céphaline pure débarrassée de toute trace de thromboplastine, que l'on ajoute à un plasma recalcifié ; on observe alors un raccourcissement très net du temps de coagulation.

Cependant, un autre fait nous permet de différencier la céphaline de la thromboplastine. En effet, lorsque l'on agite énergiquement pendant une à deux heures, à 40°, en présence de charbon végétal activé, finement pulvérisé, une préparation de thromboplastine, analogue à celle que nous avons décrite, on constate que le liquide surnageant, après centrifugation, a perdu une grande partie de son activité. Il semble donc qu'un simple traitement physique puisse suffire à séparer la thromboplastine de la céphaline. L'activité résiduelle, nous paraissant due à la céphaline seule.

La thromboplastine, facilement adsorbable, pourrait, dans ces conditions, être considérée comme accrochée à la céphaline. Il n'est pas impossible toutefois qu'elle soit liée à elle par une liaison chimique lâche et facile à disloquer. Nous n'avons pu, en effet, retrouver la thromboplastine dans le charbon ayant servi à l'extraction ; aussi, comme pour la prothrombine et l'hydroxyde d'aluminium, est-il difficile de dire s'il s'agit d'une simple adsorption ou d'une neutralisation par dislocation.

Enfin, lorsque l'on dialyse une préparation de thromboplastine, on obtient un produit plus pur, mais qui n'a rien perdu de son activité. Ce qui permet de penser que cette substance a une molécule assez grosse. En outre, si dans une préparation thromboplastique, on précipite les globulines par le sulfate d'ammoniac à saturation, on constate, après élimination complète du $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$ par dialyse, que l'activité est passée dans le précipité.

En résumé, la thromboplastine apparaît comme une protéine du groupe des globulines, liée à la céphaline dont elle est pourtant distincte ; soluble dans les solvants des lipoïdes et l'eau salée, insoluble dans l'acétone pure, thermolabile. Ces caractères nous permettent de la rapprocher des enzymes.

C'est son caractère diastasique, joint à l'action du calcium, qui permet à FERGUSON de la rapprocher de la trypsine. Cet auteur a montré, en effet, qu'en ajoutant une solution de trypsine à du plasma recalcifié, on provoquait une coagulation plus rapide qu'en l'absence de cette diastase. Il a pu, en outre, mettre en évidence l'action du calcium dans ce cas ; des quantités très faibles de trypsine, qui sont sans action par elles-mêmes ; avec le calcium, produisent rapidement la coagulation.

La thromboplastine doit-elle être considérée comme un ferment protéolytique ? C'est ce à quoi nous ne pouvons encore répondre. La similitude d'action permet toutefois de poser la question. D'autre part, la céphaline qui accélère la coagulation lors-

qu'elle est utilisée à l'état *libre*, reste sans action dans les autres cas, aussi peut-on envisager, avec FERGUSON, la thromboplastine comme une enzyme protéolytique faible dont le rôle serait de libérer la céphaline des combinaisons phospho-lipide-protéine. Nous tombons alors dans le domaine de l'hypothèse : hypothèse qu'il nous a semblé pourtant intéressante à signaler ici. D'autres faits viendront d'ailleurs la corroborer au cours de ce chapitre.

Là s'arrêtent nos connaissances sur la nature et les propriétés de la thromboplastine. Quant à son rôle exact dans la coagulation, nous avons vu que nous en sommes encore réduit à émettre de simples hypothèses.

Pourtant, comme dans le cas de la prothrombine, il nous est possible d'établir une comparaison entre les activités thromboplastiques des préparations ou même des liquides de l'organisme.

Nous avons vu que dans la méthode de MEUNIER, l'allongement du temps de latence semblait en rapport avec la thromboplastine libérée dans le plasma étudié, toutefois, il n'est pas possible actuellement de tirer de cette méthode une appréciation exacte de l'activité thromboplastique du plasma et encore moins des préparations d'organes.

QUICK avait remarqué que, si l'on ajoute de très petites quantités d'extraits thromboplastiques à un plasma recalcifié, on augmentait la vitesse de coagulation de façon proportionnelle à la quantité de thromboplastine ajoutée, jusqu'au moment où l'on

atteignait un temps minimum qui ne pouvait être diminué par de nouvelles additions de thromboplastine. Ce temps étant d'ailleurs de l'ordre de 8 à 15 secondes, et variant, non seulement avec la quantité de thromboplastine utilisée mais aussi avec la qualité de cette substance.

C'est sur la constatation de QUICK que nous avons mis au point la méthode dont nous nous servons pour apprécier l'activité thromboplastique de nos différentes préparations.

Après s'être assuré que le taux de prothrombine du plasma recueilli suivant la technique habituelle indiquée par QUICK, est de 100 %, on détermine le temps de coagulation du plasma simplement recalcifié. On recommence ensuite cette dernière opération en ajoutant des quantités croissantes de l'extrait à étudier jusqu'à ce que l'on obtienne le *temps de coagulation minimum*. Pratiquement, on utilisera un demi centimètre cube de plasma auquel on ajoutera 0,01 - 0,02 - 0,03 - 0,04 cc. etc. d'extrait. On opérera la mesure au bain-marie à 40°. Le temps de coagulation minimum est obtenu, avec une bonne préparation, en utilisant environ un volume d'extrait pour dix de plasma ; nous avons pu parfois obtenir des préparations actives au 1/20, au 1/50, et même dans un cas au 1/100.

Ce procédé, facilement applicable aux préparations d'organes ne l'est plus, sans modifications pour les liquides biologiques qui doivent être soumis à une préparation préalable, afin d'éliminer certaines causes

d'erreur. Il importe, en effet, de ne pas apporter dans la réaction d'autres facteurs de la coagulation qui pourraient gêner ou au contraire accélérer cette dernière et fausseraient les résultats. C'est ainsi que l'on aura soin d'éliminer le calcium par l'oxalate de sodium M/10 utilisé au 1/10 comme pour le sang. On éliminera également la prothrombine par l'hydroxyde d'aluminium, et dans certains cas, le fibrinogène, en utilisant, comme dans la technique de WARNER et BRINKHOUTS, une préparation de thrombine (cf. p. 23). Enfin certains liquides contenant de très petites quantités de thromboplastine devront être au préalable desséchés et l'extrait sec repris à 30° par un petit volume d'eau salée à 9 0/00. Bien entendu tous ces liquides seront ramenés au voisinage de pH 7,4 avant de faire la mesure.

Cette méthode a le gros inconvénient de n'être pas rigoureuse, faute d'une base stable. En effet, le réactif utilisé, à savoir le plasma normal, même lorsqu'on a soin d'employer toujours le même, peut varier légèrement ; d'autre part, on ne peut prendre comme base une préparation de thromboplastine étalon en raison de la difficulté de conservation de celle-ci.

Aussi cette méthode ne doit-elle constituer qu'un mode de comparaison et non une mesure précise.

Ceci posé, quels sont les résultats obtenus ?

Nous avons pu par cette méthode, comparer l'activité de différentes préparations. Ainsi que nous l'avons indiqué précédemment, les préparations de

cervelle ont toujours été plus actives que les autres, aussi, nous sommes-nous, après quelques essais, adressé uniquement à cet organe pour obtenir des préparations très actives.

Par rapport au plasma humain, nous avons constaté que l'extrait cérébral de rat blanc se montrait le moins actif, puis viennent les préparations de cervelle de veau, de bœuf, de mouton, de cobaye et de lapin, enfin l'extrait de substance cérébrale de chien, qui paraît le plus actif.

Le cerveau humain, prélevé à l'autopsie, s'est montré très actif, malgré le prélèvement tardif après la mort, et nous a donné des résultats analogues à ceux obtenus avec les extraits les plus actifs.

Ceci pose la question de la spécificité de la thromboplastine. Affirmée par plusieurs auteurs, en particulier par QUICK, cette notion a été au contraire niée par d'autres. La thromboplastine aurait en effet une action limitée à l'espèce animale dont elle proviendrait : cette action étant très diminuée pour des espèces différentes.

Les constatations que nous avons faites à propos de l'activité de la substance cérébrale humaine, paraissent confirmer, en partie, cette théorie. En effet, l'activité thromboplastique de la substance cérébrale diminue assez rapidement, aussi peut-on penser que, dans les 24 à 36 heures qui s'écoulent entre la mort et le prélèvement, une certaine partie de cette activité disparaît, ce qui ne se produit pas avec les cervelles des animaux qui ont été traitées le jour même de la

mort. Dans ces conditions l'activité thromboplastique de la substance cérébrale humaine sur le plasma humain paraît être légèrement supérieure à celle des autres extraits.

D'autre part, WARNER, BRINKHOUS et SMITH ont signalé que le temps minimum de coagulation du plasma de poulet ne pouvait être obtenu qu'avec des préparations de cervelles ou de poumons de poulet.

En réalité, il semble que la spécificité d'espèce soit limité à quelques cas particuliers et ne porte que sur l'obtention du temps minimum de coagulation. Cette spécificité ne représenterait en somme que des conditions optima et non indispensables.

Nous nous sommes également servis de la méthode de comparaison que nous venons de décrire pour étudier différents liquides biologiques qui nous occuperons maintenant.

— L'urine humaine après neutralisation est évaporée à sec et reprise par un volume d'eau distillée égal au 1/10 du volume initial, la partie insoluble est éliminée par centrifugation. On constate quelle que soit la quantité de liquide surnageant ajouté, que le temps de coagulation n'est pratiquement pas influencé. Dans les cas normaux, le culot de centrifugation a une activité très légère et d'ailleurs variable.

— La salive possède par contre une activité très marquée. Elle est prélevée, à jeun de préférence, après un lavage soigneux de la bouche et des dents. Les premières excrétions salivaires sont éliminées.

On recueille 2 à 3 cc. de salive que l'on centrifuge et on examine séparément le culot et le liquide surnageant. La partie liquide est concentrée et ramenée au tiers de son volume par évaporation dans le vide ; après neutralisation, son activité thromboplastique est des plus nette. Il est toutefois nécessaire d'ajouter au plasma réactif les $\frac{2}{3}$ de son volume en salive concentrée, pour obtenir le temps de coagulation minimum. Le culot de centrifugation se montre encore plus actif, ainsi que l'ont déjà signalé GLAZKO et GREENBERG, ce qui semble en rapport avec la présence des débris cellulaires qu'on y trouve au microscope. La substance thromboplastiques de la salive présente les mêmes propriétés générales que celle des extraits de cerveau et de poumon à laquelle on peut l'identifier. L'activité de la salive décroît assez rapidement, pour disparaître totalement en 3 à 4 jours. Par contre, l'extrait sec, obtenu à partir du liquide surnageant, est stable et peut être assez facilement conservé.

— Le suc gastrique examiné avant injection d'histamine et après avoir été neutralisé, présente une activité thromboplastique moindre que la salive mais cependant encore très marquée. Comme pour la salive c'est le culot de centrifugation qui est le plus actif, fait en rapport avec la présence de cellules desquamées ou de leucocytes. Après histamine l'activité du liquide gastrique est nettement moindre que celle du suc précédemment recueilli.

— Le liquide duodénal a une activité considérable, généralement supérieure à celle de la salive ; fait

qui ne surprendra pas si on veut bien se rappeler l'action de la trypsine sur la coagulation que nous avons déjà signalée. Ici se pose la question de savoir si l'on doit rattacher l'activité thromboplastique des sucs digestifs à la véritable thromboplastine ou bien si elle n'est que la conséquence d'une action commune à toutes les enzymes protéolytiques. La question ne peut être actuellement résolue à coup sûr, toutefois, sauf pour le suc intestinal où la trypsine joue un rôle certain, le fait que le culot de centrifugation de ces différents sucs, où l'on retrouve des débris cellulaires, soit la partie la plus active, nous incite à penser qu'il s'agit bien là d'une véritable thromboplastine analogue à celle que l'on trouve dans les extraits de cerveau ou de poumon.

— Les larmes sont pratiquement sans action active sur la coagulation.

— Le liquide céphalo-rachidien présente, par contre, une activité assez faible mais bien nette cependant.

Parmi les liquides d'origine pathologique nous avons eu surtout l'occasion d'étudier les liquides d'ascite, en particulier au cours des cirrhoses, et les liquides pleuraux.

L'ascite cirrhotique à la première ponction, après défibrination, ne présente qu'une activité faible. Mais lorsque les ponctions se répètent on voit celle-ci croître progressivement en même temps que les quantités d'albumine et de cellules augmentent. Un cas d'ascite

d'origine néoplasique nous a révélé une activité thromboplastique marquée.

Les liquides pleuraux ont une activité qui varie suivant la cause. Peu marquée dans les liquides de transsudats, celle-ci peut être très accentuée dans certaines pleurésies exsudatives, telle que la pleurésie séro-fibrineuse dont nous avons pu observer un cas.

C'est en étudiant l'activité thromboplastique du sang que nous esquisserons les grandes lignes du syndrome hémorragique qui dépend de la thromboplastine : l'hémophilie. Syndrome que nous étudierons en détail au chapitre suivant.

Dans un plasma normal, il est possible de déceler l'existence de la thromboplastine. Il faut alors avoir soin de se débarrasser de la prothrombine par l'hydroxyde d'aluminium et du fibrinogène en utilisant une solution de thrombine. Le plasma ainsi traité ne contient plus alors que la thromboplastine. On concentre dans le vide à basse température et à 1/2 cc. de plasma test on ajoute dans quantités croissantes du plasma à étudier jusqu'à obtenir le temps de coagulation minimum. De la quantité ajoutée et compte tenu de la concentration préalablement effectuée on déduit le taux de thromboplastine du plasma. Dans ces conditions on constate qu'un plasma recueilli par décantation simple des globules est plus riche en thromboplastine qu'un plasma préparé par centrifugation rapide. Fait que l'on doit relier à la présence

des plaquettes dans le premier cas, à leur absence dans le second. Toutefois les quantités de thromboplastine restent toujours relativement minimales.

Mais on peut préparer des extraits de leucocytes et de plaquettes qui présentent, par contre, une activité remarquable.

Les leucocytes sont prélevés après centrifugation du sang sous forme d'un tapis assez consistant que l'on rince à l'eau distillée, les globules rouges sont très rapidement lysés, l'eau est alors remplacée par de l'eau salée à 9 0/00 avec laquelle les globules blancs sont lavés, puis on laisse en contact pendant deux heures à la température du laboratoire avec de l'eau distillée pour provoquer la lyse des globules blancs, beaucoup plus lente. On ajoute ensuite une petite quantité de Na Cl et on laisse à nouveau macérer pendant 5 à 10 heures à 25° en agitant fréquemment ; on sépare ensuite le liquide par centrifugation. On concentre au 1/3 du volume environ et on centrifuge à nouveau. Une telle préparation possède une grande activité thromboplastique.

Cette action thromboplastique des leucocytes pose le même problème que celle des sucs digestifs. Le Professeur FRIESSINGER a montré, en effet, il y a quelques années déjà, que les leucocytes contenaient différents ferments dont un facteur protéolytique. Dans ces conditions on peut se demander si l'activité thromboplastique de ces éléments est due à l'existence d'une thromboplastine vraie, ou bien si elle n'est que la traduction de l'activité du ferment protéolytique, qui

agirait ici comme la trypsine agit sur la coagulation. Il ne nous est malheureusement pas possible, en l'état actuel de nos connaissances, de résoudre la question.

Mais il semble que ce soient les plaquettes qui possèdent l'activité la plus considérable. On sépare le plasma obtenu par simple décantation, un tel plasma est riche en plaquettes ; on centrifuge alors à 5000 — 6000 tours par minute pendant 30 minutes et on obtient dans le culot, très petit d'ailleurs, la presque totalité des plaquettes du sang à étudier. Celles-ci sont traitées comme les globules blancs par l'eau distillée d'abord que l'on sale ensuite légèrement. Dans ces conditions, l'extrait de plaquettes se montre actif au 1/10 comme les préparations obtenues à partir du cerveau ou du poumon.

Nous voudrions maintenant essayer de préciser le rôle de la thromboplastine dans la coagulation du sang ou plus exactement d'indiquer comment on peut concevoir cette action.

Nous avons vu que d'après le schéma de la coagulation, telle qu'elle est admise aujourd'hui, la thromboplastine et la prothrombine s'unissent sous l'influence du calcium pour donner la thrombine. D'autre part, nous avons mis en évidence, au début de ce chapitre, l'action certaine de la céphaline dans la coagulation. On peut se demander alors si l'hypothèse de FERGUSSON ne serait pas exacte et si la thromboplastine n'interviendrait pas comme ferment

protéolytique, favorisant la libération de la céphaline qui, avec la prothrombine et le calcium, donnerait la thrombine ? Ou bien faut-il admettre que la thromboplastine entre dans la constitution même de la thrombine ? Mais on ne saisit plus alors le rôle de la céphaline.

Personnellement, nous serions plutôt enclin à penser que l'hypothèse de FERGUSSON est exacte. En sa faveur, en effet, se trouve le fait de l'action de la trypsine sur la coagulation, et le fait que la céphaline libre, seule, active ce phénomène. Enfin, lorsque l'on reprend les expériences de NOLF, on est frappé de voir que le plasma d'oiseau, où la coagulation est extrêmement lente, peut coaguler en présence de chloroforme, qui est un solvant des lipoides. Ne peut-on admettre ici que la dissolution puisse être suffisante, dans certains cas, pour libérer la céphaline de certaines combinaisons de lipides et protéines ? La céphaline alors libérée deviendrait active et provoquerait la coagulation.

On voit ainsi se compléter la théorie de FERGUSSON, qui, si elle n'est qu'une hypothèse, semble pourtant fournir des directives de travail intéressantes, en particulier dans l'hémophilie que nous allons définir maintenant.

L'hémophilie se caractérise essentiellement du point de vue hématologique, qui nous intéresse seul ici, par un retard souvent considérable, de la coagulation du sang *in vitro*. Retard qu'il est possible de relier à un trouble de l'activité thromboplastique ;

mais trouble bien spécial pourtant puisque, comme nous le verrons plus loin, la thromboplastine est en quantité normale chez l'hémophile, alors que c'est la libération de cette substance qui est considérablement retardée. Le mécanisme de ce retard de libération qui nous expliquerait la nature de l'hémophilie nous échappe encore totalement. S'agit-il d'une action chimique ? Ce retard est-il du à l'absence d'un autre ferment qui fragiliserait les plaquettes ? Ou bien la résistance de ces éléments est-elle d'ordre purement physique ? Rien de précis ne nous permet actuellement de résoudre cette question.

Ici donc, comme pour la prothrombine, on est obligé, lorsque l'on essaye de prendre une vue d'ensemble de la thromboplastine, de reconnaître que nos connaissances restent des plus vagues, que les notions de thromboplastine et de prothrombine sont encore sujettes à révision et que là où nous croyons voir des phénomènes uniques et simples, il existe toute une machinerie physico-chimique qui nous échappe encore et que l'avenir nous révélera peut-être prochainement.

CHAPITRE IV

LES TROUBLES DE LA COAGULATION

Nous n'envisagerons ici que l'étude des troubles liés à la première phase de la coagulation : Prothrombine + Calcium + Tromboplastine = Thrombine.

Dans ces conditions, on pourra observer des troubles relevant de l'un de ces trois facteurs. Nous essaierons de les caractériser dans ce chapitre.

Le Calcium ne nous arrêtera pas ici, il n'entre pas dans le cadre de notre travail.

Nous croyons pourtant utile d'insister sur une notion maintes fois démontrée : la rareté des troubles liés à une carence en Calcium. De nombreux auteurs ont montré que, même dans les cas de calcémie très basse, on n'observait jamais de troubles de la coagulation. Aussi, pour notre part, pensons-nous que ce facteur peut être considéré comme négligeable et pratiquement il n'intervient pour ainsi dire jamais dans les troubles de la coagulation sanguine.

Il reste donc la prothrombine et la thromboplastine ; nous avons déjà signalé au passage les différents syndromes hémorragiques dont ils sont responsables, nous allons maintenant étudier chacun d'eux en détail.

A. — SYNDROMES HÉMORRAGIQUES LIÉS
A UNE DÉFICIENCE EN PROTHROMBINE

Essayons tout d'abord d'indiquer les caractéristiques hématologiques de ces syndromes.

— Le temps de saignement est en général normal, dans quelques cas il est un peu allongé.

— Le temps de coagulation est normal.

— Le signe du lacet est le plus souvent négatif. (il relève d'ailleurs d'une cause totalement différente).

— Le temps de Howell est normal.

— Le temps de Quick et les différentes méthodes d'appréciation de la prothrombine donnent des chiffres très inférieurs au taux normal.

— L'activité thromboplastique des cellules sanguines (leucocytes et plaquettes) est normale.

— La fibrinémie est en générale normale (3,50 à 5 gr. par litre), parfois elle est abaissée (cirrheses, hépatites), ou au contraire élevée, traduisant la défense de l'organisme aux hémorragies.

Rappelons maintenant les conditions nécessaires pour que le taux de prothrombine soit normal. Il faut en effet :

- que le régime contienne de la vitamine K ou des substances pouvant lui donner naissance.
- que la sécrétion et l'excrétion biliaire dans l'intestin soient normales.
- que la surface d'absorption intestinale fonctionne normalement.
- enfin que le parenchyme hépatique soit capable de fabriquer la prothrombine à partir de la vitamine K.

Ces conditions nous permettront de rattacher les troubles liés à une baisse de la prothrombinémie à une origine : alimentaire, hépatique par suppression de la fonction de sécrétion interne ou externe, ou enfin intestinale.

Nous avons vu par les expériences de GREAVES et SCHMIDT sur le rat, que la carence alimentaire seule ne suffit pas chez les mammifères pour provoquer une hypoprothrombinémie marquée. Aussi les carences isolées en vitamine K nous semblent-elles être très rares chez l'homme. KARK et LOZNER en ont signalé pourtant quatre cas chez des sujets pluri-carencés. Cette carence isolée est en tous cas exceptionnelle.

Les facteurs de carence semblent donc se localiser au foie et à l'intestin.

Le système hépatique pourra être doublement responsable de la chute du taux de prothrombine : soit par déficience de la sécrétion ou de l'excrétion biliaire, soit par altération du parenchyme, dont l'activité peut être plus ou moins diminuée.

La fonction de la bile dans l'intestin ne pourra être

remplie dans les cas d'ictère par rétention, que cet ictère soit dû à un calcul, ou à une compression des voies biliaires. Dans ce cas, la possibilité de connaître la tendance des malades aux hémorragies avant l'intervention, pourra rendre les plus grands services. En les soumettant à une médication vitaminique appropriée, dans les jours qui précéderont l'opération, on verra la prothrombinémie augmenter et il sera ainsi possible de se mettre à l'abri des accidents hémorragiques toujours graves chez ces malades.

L'abaissement du taux de prothrombine est dans ces cas très variable. Dans nos observations d'ictère dû à un calcul du cholédoque, nos résultats ont été de : 100 %, 85 %, 70 %, 50 % et 40 %. Nous avons été surpris de trouver des chiffres élevés : 100 % et 70 % dans deux cas d'ictère par rétention durant depuis plus de quatre mois, alors que les taux les plus bas nous ont été fournis par deux malades atteintes respectivement, depuis un mois et six semaines d'ictère par rétention mais qui s'était accompagné de fièvre. Avec notre maître, le Professeur FIESSINGER, qui, le premier, en a signalé l'importance, nous pensons que la fièvre, témoin de l'infection surajoutée, a une grosse importance dans le mécanisme de la baisse de la prothrombine chez ces malades. Nous avons d'ailleurs observé le même fait chez des sujets atteints de néoplasme du pancréas, comprimant les voies biliaires ou de néoplasme de la vésicule. Nous avons noté, dans un cas

de cancer du pancréas chez une femme de 66 ans à qui il avait été fait une cholécystostomie, une prothrombinémie à 40 %. La malade est morte cinq jours après notre examen, ayant déjà reçu de la vitamine K sans avoir présenté d'hémorragies. Un ictère avec cancer de la vésicule suivi pendant trois mois nous a donné les chiffres suivants : 90 %, 100 %, 60 %.

Il semble que dans ces cas, l'absence de bile intestinale lorsqu'elle se double d'une infection même légère, provoque de façon plus rapide la baisse de la prothrombine que lorsqu'elle est isolée. Le facteur parenchymateux paraît donc le facteur principal, aussi est-ce dans les lésions atteignant la cellule hépatique elle-même que l'on trouve les chiffres les plus bas.

Nous avons pu suivre plusieurs cirrhoses. Dans un cas de cirrhose avec ascite chez une femme de 40 ans, nous avons observé un taux de 75 % ; la malade est morte quelques jours après, sans avoir présenté d'hémorragies. Un cas de cirrhose avec ascite, sans ictère, au début, nous a donné le chiffre de 100 %, cependant qu'une cirrhotique, qui avait présenté de la fièvre et évoluait depuis six semaines seulement, avait une prothrombinémie à 45 %.

Un cas de cirrhose a été suivi de près qui montre bien le parallélisme qui existe entre l'état du parenchyme hépatique et le taux de prothrombine.

Le malade, âgé de 47 ans, présente une cirrhose avec ascite peu volumineuse mais amaigrissement et mau-

vais état général ; les dosages de prothrombine faits chez lui donnent les résultats suivants :

Le 9 décembre 1940 : 50 %

Le 14 décembre 1940 : 40 %

On donne alors au malade 10 milligrammes par jour de vitamine K avec 20 centigrammes de sels biliaires per os pendant cinq jours.

Le 21 décembre, la prothrombine est à 70 % ; on suspend l'administration de vitamine K.

Le 9 janvier 1941, elle est tombée à 50 % ; on reprend la vitamine K à la même dose pendant 10 jours. Cependant l'état général devient plus mauvais, on craint un ictère grave. Un dosage pratiqué le 20 janvier révèle une prothrombinémie à 20 %. Le malade s'améliore cependant ; on reprend le traitement et le 11 février la prothrombine remonte à 90 %.

Dans une observation de cancer du foie avec hémorragies, l'examen pratiqué deux jours avant la mort avait révélé une prothrombinémie à 20 %.

Enfin, une hépatite scléro-graisseuse, avec bacilles de Koch dans l'expectoration, nous a donné des taux de 50 et 40 %. Il en a été de même dans un cas d'ictère avec hépatite spécifique où les chiffres trouvés ont été 40 et 50 %.

Des dosages de fibrine ont été exécutés simultanément dans la plupart de nos observations ; nous avons pu constater que l'abaissement de la prothrombinémie précédait toujours celle de la fibrinémie ; en particulier dans les cirrhoses. Le dosage de la prothrombine nous semble constituer une épreuve du fonctionnement hépatique plus sensible que celui de la fibrine.

Le foie joue donc un rôle de premier plan dans le maintien du taux de la prothrombine. Toutefois, un autre organe intervient avant lui pour lui fournir la vitamine K : l'intestin.

Aussi peut-on rencontrer des hypoprothrombinémies par défaut d'absorption au niveau de la muqueuse intestinale. Différents auteurs ont montré que l'absorption de la vitamine K se faisait principalement dans la partie terminale de l'intestin et ont pu observer dans certains cas de colite ulcéreuse, de polypose et de sprue des taux de prothrombine nettement inférieurs à la normale. Nous n'avons pas eu personnellement l'occasion d'en observer. Toutefois, dans un cas de fièvre typhoïde sévère, sans hémorragie, un examen pratiqué avec la méthode de Quick nous a révélé une prothrombinémie abaissée à 60 %.

Néanmoins, pour entraîner un abaissement notable du taux de la prothrombine, les lésions intestinales, lorsqu'elles ne s'accompagnent d'aucune déficience du fonctionnement hépatique, doivent être étendues et avoir une évolution lente et prolongée. Elles apparaissent comme une cause moins importante de prothrombinopénie que le foie.

Dans ce syndrome il faut faire rentrer la diathèse hémorragique du nouveau-né.

Lié vraisemblablement à une déficience du fonctionnement hépatique, le mécanisme de la carence en prothrombine est encore mal connu. Celle-ci a

été souvent rattachée à un défaut du fonctionnement hépatique qui serait incapable d'élaborer de la prothrombine durant les premiers jours de la vie, d'où la prothrombinopénie physiologique du nouveau-né que nous avons déjà signalée. Pour d'autres auteurs, il y aurait surtout un trouble de la sécrétion biliaire, Quel que soit le mécanisme invoqué, il reste un fait certain, c'est la chute de la prothrombine dans ce syndrome hémorragique, et l'activité thérapeutique remarquable de la vitamine K.

Aussi certains auteurs ont-ils proposé, afin d'éviter cet accident redoutable et souvent mortel pour le nouveau-né, de donner à titre préventif de la vitamine K durant les premiers jours de la vie, ou même de faire ingérer à la mère durant les jours précédant la naissance, une certaine quantité de cette vitamine.

De cette étude des troubles de la coagulation liés à une hypoprothrombinémie, il ressort que le foie est l'organe le plus souvent responsable, qu'il s'agisse du parenchyme hépatique et de l'élaboration même de la prothrombine, ou d'un obstacle à la sécrétion biliaire, agent principal de l'absorption de la vitamine K.

C'est dire combien ce syndrome hémorragique nettement défini est limité, et dans quels cas précis on devra avoir recours à la vitamine K. Vitamine que l'on doit bien se garder de concevoir comme un hémostatique banal. Nous y reviendrons plus loin.

B. — SYNDROMES HÉMORRAGIQUES LIÉS
A UNE DÉFICIENCE THROMBOPLASTIQUE

Le cadre des hémorragies imputables à la thromboplastine est beaucoup moins net, et, si certains syndromes ont pu être rattachés à une déficience de l'activité thromboplastique, comme c'est le cas de l'hémophilie, le mécanisme en reste incertain et la thérapeutique bien décevante encore.

Quels sont les signes nous permettant de relier les troubles observés à la thromboplastine ?

— Le temps de saignement est normal, rarement légèrement prolongé.

— Le temps de coagulation est, de façon constante allongé, parfois même, comme dans l'hémophilie, il peut demander plusieurs heures.

— Le signe du lacet peut être positif ou négatif ; il n'est que la représentation de la fragilité des capillaires et non d'un trouble de coagulation.

— Le temps de Howel est allongé.

— Le temps de Quick et les différentes méthodes de mesure de la prothrombine fournissent des chiffres normaux. Toutefois le temps de latence dans la méthode de Meunier est nettement allongé, passant de 6-8 minutes à 15-20 minutes.

— La mesure de l'activité thromboplastique de la salive, donne des résultats variables et inconstants sur lesquels on ne peut vraiment compter.

— Par contre, on note une diminution sensible de

l'activité thromboplastique des cellules sanguines (leucocytes et plaquettes).

Le syndrome clinique majeur rentrant dans ce cadre est l'hémophilie. Nous n'en rappellerons pas ici les signes cliniques trop connus et nous nous attacherons uniquement à l'hématologie.

On a longtemps cherché des modifications morphologiques des cellules du sang hémophile ; en fait, il semble que la morphologie des différents éléments ne soit pas modifiée, ou, si elle l'est, c'est, tout au moins, de façon inconstante et variable. Par contre, les recherches poursuivies sur la physiologie du plasma, du sérum ou des globules blancs et des plaquettes, ont donné des résultats intéressants qui ont permis de relier cette dyscrasie sanguine à la thromboplastine. En effet, dans le sang hémophile, prothrombine, calcium et fibrinogène existent en quantité normale. Il semble donc, à priori, que l'on puisse incriminer une déficience de la thromboplastine, en fait, si cette substance intervient, elle n'est pas seule en cause ici.

Les expériences de BRINKHOUS et ses collaborateurs sont des plus intéressantes et nous précisent quelque peu le phénomène. Ces auteurs prélèvent du sang hémophile et le laissent séjourner 15 minutes à 28° pour obtenir la désintégration des plaquettes et des cellules du sang afin de permettre la libération de la thromboplastine ; le sang est ensuite centrifugé à 4000 tours par minute pendant 15 minutes. A ce moment un premier dosage de prothrombine est effectué

suivant la méthode décrite par ces auteurs et que nous avons rapportée plus haut ; il montre un taux identique à celui d'un plasma normal. 30 minutes après, aucune quantité notable de prothrombine n'a disparu, ce qui est en accord avec le fait que 60 minutes après le prélèvement le caillot n'est pas encore formé. 24 heures après, dans le sérum, le taux de prothrombine est encore de 50 %, et ce n'est qu'au bout de trois jours que 90 % de prothrombine ont disparu. Dans les mêmes conditions, on prélève du sang normal que l'on centrifuge pendant 10 minutes, temps pendant lequel se produit la coagulation ; 30 minutes après le prélèvement 30 % de la prothrombine se sont transformés et 90 % au bout de trois heures.

Il ressort de ces expériences que le temps de conversion de la prothrombine en thrombine est extrêmement allongé dans l'hémophilie. Une autre expérience des mêmes auteurs permet de relier ce fait à une déficience en thromboplastine.

BRINKHOUS et ses collaborateurs ajoutent au sang hémophile une préparation de thromboplastine obtenue à partir de poumon de bœuf et contenant 3,3 gr. pour cent d'extrait solide. Ils opèrent des dilution au 1/1000 et au 1/10000 de cette préparation et constatent que si l'on ajoute la valeur de 1/2 milligramme d'extrait solide à un centimètre cube de sang hémophile, le temps de coagulation est ramené à la normale. Cette expérience montre la haute activité de la thromboplastine, si l'on songe à la grande quan-

tité de substances inertes contenues dans l'extrait solide.

Il semble donc bien que l'on puisse rattacher le défaut de coagulation du sang hémophile à la thromboplastine, mais s'agit-il d'une carence vraie en thromboplastine ou d'un retard de libération de cette substance ?

C'est encore aux mêmes auteurs que nous nous adresserons pour résoudre la question.

Si on laisse le sang hémophile citraté sans centrifugation pendant 24 heures, on constate que la coagulation se fait normalement si on recalcifie le sang à ce moment. Une petite quantité de ce même sang est, au contraire, centrifugée et privée de cellules, on constate alors 24 heures après prélèvement que le temps de coagulation n'est pas diminué, à l'inverse du sang total.

De ces trois expériences on peut déduire que l'hémophilie est liée à un retard de libération de la thromboplastine par les plaquettes et les leucocytes, mais que cette substance existe pourtant à un taux normal. Ce qui explique le fait que nous avons souvent une activité thromboplastique salivaire normale chez l'hémophile.

Doit-on conclure que la thromboplastine suffit à elle seule à expliquer l'hémophilie ? Il n'en est rien ; en effet, il faut encore expliquer le retard de libération de la thromboplastine, en sorte que le problème nous paraît simplement posé de façon plus précise, plutôt que résolu.

Dans un travail paru en 1937, PÂTEK et TAYLOR

signalaient l'existence d'une substance thermolabile précipitant avec les globulines, et différente de la thromboplastine à laquelle ils attribuaient certains caractères enzymatiques et qu'ils ne retrouvaient que très faiblement chez l'hémophile ; alors que cette substance, ou plus exactement le précipité de globuline la contenant, *in vitro* et *in vivo* avait le pouvoir de diminuer le temps de coagulation dans des proportions notables du sang hémophilique.

Personnellement nous n'avons pu retrouver de façon précise cette substance ; pourtant nous ne serions pas éloignés de croire à l'existence d'un facteur diastasique qui interviendrait dans les phénomènes de libération et peut-être même d'élaboration de la thromboplastine qui ne serait alors elle-même que la résultante d'une première transformation. Les recherches que nous avons entreprises, tout en nous orientant dans ce sens, ne sont pas suffisamment avancées pour nous permettre de trancher la question, que nous ne faisons ici que poser.

Certains auteurs ont pensé que l'antithrombine jouait un rôle important dans l'hémophilie en neutralisant la thrombine au fur et à mesure de sa formation. De nombreux travaux faits pendant ces dernières années ont montré que l'antithrombine du sang hémophile ne possédait pas une plus grande activité et n'était pas en quantité plus considérable que dans le sang normal.

Aussi pensons-nous que la thromboplastine reste en définitive la substance responsable de l'hémo-

philie. Un argument supplémentaire nous en est donné par la thérapeutique que nous étudierons plus loin.

Ce rapide aperçu des troubles responsables de l'hémophilie montre la complexité d'un tel phénomène.

A côté de l'hémophilie qui emplit à elle seule la majeure partie de ce cadre, nous avons observé une baisse de l'activité thromboplastique des plaquettes et des leucocytes dans certains purpuras thrombopéniques. Mais ici il s'agirait d'une diminution véritable de l'activité de la thromboplastine et non comme dans l'hémophilie d'un retard de libération. En particulier, nous avons constaté dans le syndrome hémorragique du scorbut une baisse de l'activité thromboplastique des cellules sanguines. BRINKHOUTS a fait remarquer, d'autre part, à ce sujet que l'animal qui peut présenter des troubles scorbutiques analogues à ceux de l'homme, le cobaye, présente comme lui, à l'état normal, un temps de transformation de la prothrombine plus long que celui des autres espèces animales. Il semble donc que les recherches puissent être orientées de ce côté dans les hémorragies scorbutiques.

Les deux classes de syndromes hémorragiques que nous venons d'étudier rapidement peuvent donc être assez facilement différenciées.

Dans le cas de prothrombinopénie, les hémorragies s'accompagnent toujours d'un allongement du temps de Quick qui constitue parfois le seul signe hématologique.

Dans la thromboplastinopénie, les hémorragies sont en rapport avec un retard de libération de la thromboplastine ou une diminution de l'activité de celle-ci, décelée par les méthodes que nous avons indiquées au chapitre III.

La sanction thérapeutique est également différente, alors que dans le premiers cas l'administration de vitamine K. provoque un retour rapide à la normale, dans le second, au contraire, cette substance est sans action et la thérapeutique ainsi que nous allons le voir plus loin est souvent déficiente.

A la fin de ce chapitre sur l'étude de certain troubles de la coagulation, nous voudrions insister sur le fait que les notions de prothrombine et de thromboplastine ne suffisent pas à tout expliquer. Bien plus, ces termes désignent pour nous, beaucoup plus des notions commodes que des substances nettement définies. Elles servent à nous orienter, elles correspondent à des faits cliniques bien établis, mais il est évident que d'autres substances encore inconnues ou mal connues interviennent pour retarder ou modifier la coagulation. Enfin, les phénomènes physiques dont nous avons fait totalement exclusion dans ce travail, jouent un rôle important dans le déclenchement des phénomènes chimiques de la coagulation.

De telles données doivent rester présentes à l'esprit lorsque l'on étudie la coagulation sanguine, qui, dans un travail comme le nôtre, risque d'être considérée sous un angle trop réduit. L'intérêt de l'étude des notions de prothrombine et de thromboplastine réside surtout dans les conséquences thérapeutiques qu'elles entraînent et que nous allons étudier maintenant.

CHAPITRE V

LES THERAPEUTIQUES

Nous venons de voir combien les deux syndromes hémorragiques que nous avons décrits, s'opposent lorsqu'on les étudie dans le détail. Cette opposition se complète encore dans le domaine de la thérapeutique, nous l'avons déjà signalé.

Il nous faut maintenant en donner les grandes lignes dans chacun des deux cas. Il n'est pas, en effet, question de donner les règles d'une thérapeutique précise, dans un domaine où les hésitations sont encore nombreuses et les résultats inconstants, parfois décevants.

A) THÉRAPEUTIQUE DU SYNDROME HÉMORRAGIQUE LIÉ À UNE DÉFICIENCE DE LA PROTHROMBINE : LA VITAMINE K.

Nous avons vu les rapports qui existent entre la vitamine K. et le taux de la prothrombine, c'est de ces rapports que découle l'utilisation thérapeutique de la vitamine K.

a) Dans les ictères par rétention, la prothrombino-pénie est surtout la conséquence d'un défaut d'*absorption* de la vitamine K. en relation avec l'absence de bile intestinale. Dans ces conditions, ce qu'il faut, c'est améliorer ou compenser le défaut d'excrétion biliaire. Aussi dans ces ictères, quelle qu'en soit la cause, lithiasique ou néoplasique, est-il nécessaire de donner tout d'abord des sels biliaires par voie digestive. On complètera cette thérapeutique par l'administration de vitamine K. Quelles doses de sels biliaires et de vitamine K. faut-il donner ? Il est difficile de fixer exactement les doses utiles, nous ne ferons ici qu'indiquer la technique que notre expérience personnelle nous a permis d'adopter.

La quantité de sels biliaires à administrer est évidemment variable suivant le degré de rétention et la forme sous laquelle cette substance est administrée. Lorsqu'on utilise la bile totale, nous pensons que la quantité minima à utiliser doit être de 0,50 gr. à 1 gr. environ par 24 h., donnés en 2 ou 4 fois, 10 minutes avant l'absorption de vitamine K. Lorsque l'on utilise les sels biliaires, il faudra utiliser de 20 à 50 centigrammes chaque jour, absorbés dans les mêmes conditions que la bile.

Quant à la vitamine K., son utilisation varie suivant le taux de prothrombine du malade, suivant l'urgence du traitement et enfin avec la préparation utilisée. Nous avons employé la 2méthyl 1 - 4 naphthoquinone en solution huileuse que l'on peut considérer actuellement comme le corps le plus

actif. Nous donnons à nos malades de 2 à 5 milligrammes par jour, par voie buccale, répartis en 2 prises pendant 5 à 6 jours. Le taux de la prothrombine remonte alors au voisinage de la normale en une semaine environ, parfois plus rapidement. Il y a intérêt à continuer l'administration de sels biliaires même après cessation de la vitamine K.

Lorsque la prothrombinopénie est très accentuée et qu'il y a urgence, il peut être nécessaire d'utiliser la voie parentérale, on fera alors chaque jour 1 ou 2 injections intra-musculaires de solution huileuse de vitamine K., soit 5 ou 10 milligrammes. Il est alors inutile de faire absorber des sels biliaires. Nous ne pensons pas qu'il y ait intérêt à donner des doses supérieures de vitamine dans ces cas d'ictère par rétention où c'est presque uniquement l'absorption qui est touchée, le mécanisme d'élaboration de la prothrombine étant à peu près indemne et la transformation se faisant rapidement.

Lorsque l'on envisage un acte opératoire chez les ictériques, il sera utile de pratiquer systématiquement un dosage de la prothrombine, toute déficience, même légère, devra alors être réparée avant l'opération. En effet, on constate toujours dans les jours qui suivent l'intervention, une chute notable de la prothrombinémie. Aussi, est-il nécessaire, afin d'éviter les hémorragies, que l'on a si souvent observées après les interventions de ce genre, de fournir au malade une quantité importante de vitamine K. avant l'opération, en utilisant la voie digestive ; après, par voie intramuscu-

laire en suivant la prothrombinémie par des examens pratiqués tous les deux ou trois jours. L'administration de vitamine K, cessant dès que la prothrombine atteint 90 %, pour reprendre si on la voyait descendre à nouveau vers 60 ou 70 %. Il importe, en effet, chez ces malades, de rester toujours dans la première zone telle que nous l'avons décrite en raison de la gravité des hémorragies.

b) Dans les hépatites, les cirroses et les affections qui entraînent une lésion du parenchyme hépatique.

Ici, il ne s'agit plus seulement d'absorption, il faut, en outre, aider à l'élaboration de la prothrombine. Dans ces cas, il y a intérêt à donner des sels biliaires comme précédemment pour faciliter l'absorption intestinale de vitamine K.

Mais les doses de cette vitamine doivent être plus considérables et la voie parentérale sera plus souvent utilisée.

Il est difficile là encore de donner des chiffres précis, qui dépendent non seulement de l'hypoprothrombinémie, mais aussi de l'état du parenchyme hépatique et de sa possibilité de réagir à la vitaminothérapie, pourtant chez les cirrhotiques que nous avons eu à traiter, nous avons donné de 10 à 20 milligrammes, parfois plus, pendant des périodes de 5 à 15 jours, suivies de 10 à 15 jours de repos.

Dans ces cas, il faut se souvenir que c'est de l'état du parenchyme hépatique que dépend le succès de la thérapeutique, il est bien évident qu'au cours d'une cirrhose, par exemple, lors des poussées évolutives,

on observera une chute parfois impressionnante de la prothrombine que l'administration de vitamine K. n'enrayera que difficilement ou même pas du tout, mais avec l'amélioration ou la stabilisation du malade on obtiendra rapidement l'effet thérapeutique cherché. C'est dire que dans lictère grave, on donnera évidemment de la vitamine K., mais sans en attendre de gros résultats, le foie étant souvent incapable de réagir, quelle que soit la dose utilisée. Nous pensons que cette remarque bien mise en valeur par notre Maître, le Professeur FIESSINGER, est des plus importante pour la conduite du traitement et les résultats qu'on est en droit d'en attendre.

c) Dans la diathèse hémorragique du nourrisson, le traitement peut être préventif ou curatif. Devant l'hypoprothrombinémie physiologique du nouveau-né, particulièrement du prématuré, certains auteurs ont pensé, avec juste raison, que l'on pourrait éviter certains accidents hémorragiques, tels que ceux que nous avons signalés, en faisant absorber à l'enfant de petites quantités de vitamine K.

Cette méthode a paru donner déjà de bons résultats ; on administre alors 1/2 à 2 milligrammes par jour pendant 10 jours avec repos de 10 à 20 jours et reprise du traitement. Il faut, dans ce cas, faire de fréquents dosages de la prothrombinémie par la micro méthode que nous avons déjà indiquée, la constatation d'un taux de prothrombine voisine de la normale devant entraîner la cessation du traitement qui

ne serait repris que si l'on venait à constater une nouvelle *chute importante* de la prothrombinémie.

Enfin, signalons que l'on a essayé d'administrer à la mère, à titre préventif pour l'enfant, surtout lorsque l'on craint un accouchement prématuré, de petites doses de vitamine K à partir du 7^e mois, à raison de 1 à 2 milligrammes par jour. Les observations ont montré que la vitamine K passant de la mère à l'enfant, celui-ci naissait, de ce fait, avec un taux de prothrombine supérieure à celui du nouveau-né dont la mère n'avait pas été traitée.

Devant le syndrome hémorragique du nouveau-né, les doses de vitamine K devront être plus fortes : 2 à 5 milligrammes par jour, pendant 5 à 8 jours. Lorsque la diathèse hémorragique s'accompagne d'ictère, nous pensons que les doses doivent être augmentées et portées à 10 milligrammes par jour.

d) Dans les infections intestinales.

Il n'est plus question dans ces cas d'utiliser la voie digestive : on s'adressera uniquement aux injections intramusculaires de vitamine K aux doses de 5 à 10 milligrammes, pro die, pendant 5 à 10 jours, avec repos de 5 à 15 jours, suivant l'évolution du taux de la prothrombine.

Telles sont les grandes lignes de la thérapeutique par la vitamine K. Cette thérapeutique présente-t-elle des inconvénients ?

Il ne s'agit pas ici des fausses indications qui sont nombreuses, puisque ce sont toutes celles des hémorragies sans abaissement de la prothrombine, mais des

phénomènes qui peuvent entraîner une vitaminothérapie intempestive, à trop forte dose ou prolongée.

P. MEUNIER et ses collaborateurs, en donnant de fortes doses de 2méthyl-1-4-naphtoquinone chez le lapin, ont observé une diminution du temps de coagulation bientôt suivie d'un allongement considérable de ce même temps. Ce fait est d'ailleurs moins marqué en utilisant les solutions huileuses. Il ne semble pas avoir été observé de troubles d'hypervitaminose chez l'homme, toutefois l'expérience de P. MEUNIER nous engage à la prudence et nous pensons qu'il ne faut pas utiliser la vitamine K pendant une durée trop longue. Les observations cliniques nous ont d'ailleurs montré que les résultats étaient en général obtenus rapidement en 5 à 10 jours, que, bien souvent, ils se maintiennent un certain temps, parfois très long, aussi est-il inutile, sinon dangereux, de poursuivre de façon continue cette thérapeutique et cela d'autant plus que les sujets qui y sont soumis y réagissent mieux et plus rapidement.

Il est d'autre part entendu qu'en cas d'hémorragie grave chez un hépatique, il pourra être nécessaire de pratiquer une transfusion qui reste dans tous les cas la médication d'urgence de toute hémorragie et qui, apportant au malade une prothrombine toute formée, permet de gagner le temps nécessaire pour que la vitamine K puisse agir. Cette thérapeutique est trop connue pour qu'il soit nécessaire d'en souligner l'importance.

B. THÉRAPEUTIQUE DU SYNDROME HÉMORRAGIPARE
LIÉ A UNE DÉFICIENCE EN THROMBOPLASTINE

Ici, il n'y a plus de règles thérapeutiques précises à donner, la grande indication, la seule vraiment efficace est la transfusion sanguine souvent répétée qui est justifiée par la thromboplastine libérée qu'elle apporte à l'organisme malade en même temps qu'elle contribue à la réparation de la masse sanguine et des éléments cellulaires. Nous n'insisterons pas davantage sur cette thérapeutique bien connue et qui, seule, a donné des résultats sinon constants, du moins satisfaisants.

En dehors de la transfusion, on a essayé d'administrer aux malades, en particulier aux hémophiles, des anticoagulants variés, sans grands résultats d'ailleurs. Toutefois, il était logique de penser que des extraits de substances thromboplastiques devaient améliorer la coagulation du sang hémophile. Disons tout de suite que par voie digestive les résultats sont nuls, ce qui est assez normal si l'on songe que l'hémophile possède une thromboplastine suffisante. Quant à la voie parentérale, elle est inutilisée, parce que dangereuse. D'ailleurs, J. ROSKAM a montré, il y a quelque temps, que différentes préparations de thromboplastine injectées lentement dans les veines d'un lapin ne modifient aucunement le temps de coagulation de l'animal. Bien plus, l'auteur a même pu observer dans certains cas un allongement de ce temps de

coagulation. Signalons toutefois qu'un extrait de plaquettes lui a, par contre, donné de bons résultats quelle que soit la voie d'administration utilisée.

En résumé, nous pensons que dans l'hémophilie l'emploi d'extraits thromboplastiques, s'il est logique, reste sans résultats. Toutefois, il n'en est plus ainsi lorsque l'on peut agir localement, en cas de plaie par exemple où, à condition d'utiliser des extraits très actifs, on peut obtenir des résultats intéressants. Mais, en dehors des plaies, les autres manifestations hémophiliques tels que les hémarthroses, les hématomes intra-musculaires, etc... restent totalement, ou à peu près, au-dessus de toute intervention thérapeutique.

Parmi les différentes thérapeutiques utilisées, on a signalé l'action favorable de la folliculine. Avec le Professeur FIESSINGER, nous pensons que l'action de cette substance est peut-être due au déclenchement d'une hyperleucocytose passagère avec hyperplaquetose. Notons que l'on peut en rapprocher l'action de certaines leucocytoses fébriles sur les hémorragies hémophiliques.

Quant aux injections d'albumines hétérogènes, elles agissent, suivant nous, de deux façons, en provoquant une leucocytose toxique passagère et en favorisant la rupture de l'équilibre sanguin, entraînant ainsi une libération plus rapide de la thromboplastine des plaquettes. Aussi cette dernière thérapeutique nous paraît-elle devoir être tentée, sans compter, bien entendu, sur une réponse toujours favorable de l'organisme.

On voit par ce court exposé les différences thérapeutiques réelles qui existent entre les deux syndromes hémorragiques. Dans l'un, nous disposons d'un facteur spécifique, la vitamine K. extrêmement précieuse, dont l'activité n'est limitée en pratique que par l'état du parenchyme hépatique. Dans l'autre, la transfusion reste encore le meilleur moyen thérapeutique, auquel on pourra joindre dans certain cas (plaies), l'action locale d'un extrait thromboplastique actif, et, en outre, parfois les injections d'albumines hétérogènes dans l'espoir de faciliter la libération de la thromboplastine. Mais en fait, la véritable thérapeutique de l'hémophilie, celle qui provoquerait la libération rapide de la thromboplastine, nous manque encore faute de connaître le mécanisme de cette libération.

CONCLUSION

— La prothrombine présente certains caractères qui permettent de la rattacher au groupe des enzymes. Les rapports certains qu'elle présente avec la vitamine K. nous sont encore inconnus dans leur mécanisme intime.

— La thromboplastine, par ses propriétés physico-chimiques, peut être rattachée au même groupe de substances ; toutefois, par sa distribution, par son action, par les analogies qu'elle présente avec la trypsine, elle diffère nettement de la prothrombine, et semble s'apparenter aux enzymes protéolytiques.

— Les troubles de chacune de ces deux substances se manifestent cliniquement par deux syndromes hémorragiques dont les types sont les hémorragies hépatiques avec prothrombinopénie, et l'hémophilie avec déficience en thromboplastine.

— Mais alors qu'il s'agit dans le premier cas d'une véritable carence en prothrombine, dans le second il n'y a qu'un retard de libération de la thromboplastine, qu'une étude un peu minutieuse montre en

réalité exister à un taux normal. La cause de ce retard nous est encore inconnue.

— De ces divergences, il résulte une certaine opposition entre les thérapeutiques. Alors que dans les hémorragies relevant d'une prothrombinopénie, la vitamine K. se comporte comme un agent spécifique à action à peu près constante ; dans l'hémophilie, au contraire, faute d'en connaître la cause véritable, les hémorragies ne peuvent être combattues que par des moyens indirects dont la transfusion répétée constitue encore actuellement le plus sûr ; aidée parfois par des applications locales de substance thromboplastique.

Vu : le Doyen de la Faculté,
BAUDOUIN.

Vu : le Président de thèse,
FIESSINGER.

Vu et permis d'imprimer :

Le Doyen de la Faculté des Sciences
chargé des fonctions de Recteur de l'Académie de Paris
CH. MAURAIN

BIBLIOGRAPHIE

1. ALMQUIST (H. J.). — Anti-hemorrhagic Vitamin. *Poultry Sc.*, 16, 166, May 1937.
2. ALMQUIST (H. J.). — Further studies on the anti-hémorrhagic vitamin. *Journ. Biol. Chem.*, 120, 635, sept. 1937.
3. ALMQUIST (H. J.) et KLOSE. — Anti-hémorrhagic activity of pure synthétic phtiocol. *Jour. Amer. Sc.*, 6, 1611, June 1939.
4. ALMQUIST (H. J.) et KLOSE (A. A.). — Color reactions in vitamin K concentrates. *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 6, 1610, June 1939.
5. ALMQUIST (H. J.) et KLOSE (A. A.). — The anti-hémorrhagic activity of certain naphthoquinones. *Jour. Amer. Chem. Soc.*, 7, 1923, July 1939.
6. ALMQUIST (H. J.) et STOKSTAD (E. L. R.). — Hémorrhagic Chick disease of dietary origin. *Jour. Biol. Chem.*, 111, 105, Sept. 1935.
7. ALMQUIST (H. J.) et STOKSTAD (E. L. R.). — Purification of the anti-hémorrhagic vitamin. *Jour. Biol. Chem.*, 114, 241, May 1936.

8. ANSBACHER et FEINHOLZ (E.). — Simple compounds with vitamin K activity. *Jour. Amer. Chem. Soc.*, 7, 1925, July 1939.
9. BARTFELD (Debora). — Thèse Doct. Méd. Paris, 1940.
10. BORDET et DELANGE. — La coagulation du sang et la genèse de la thrombine. *Ann. Inst. Pasteur*, sept. 1912, 657 à 674 et 737 à 766.
11. BORDET et DELANGE. — Nature du cytozyme. *Ann. Inst. Pasteur*, mai 1913, 341.
12. BORDET. — Mode d'action du chloroforme et préparation de l'antithrombine normale. *Arc. Intern. Physiol.*, 31, 47, 1929.
13. BRINKHOUS (K. M.). — A study of the clotting defect in hémophilia : the delayer formation of thrombin. *Amer. Jour. Med. Sc.* 198, 509, oct. 1939.
14. BRINKHOUS (K. M.), SMITH (H. P.) et WARNER (E. D.). — Plasma prothrombin level in normal infancy and in hémorrhagic disease of the newborn. *Amer. Jour. Méd. Sc.*, 193, 475, April 1939.
15. BUTT (H. R.), SNELL (A. M.) et OSTERBERG (A. E.). — The use of vitamin K and bile intreatment of the hémorrhagic diathesis in cases of jaundice. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 13, 74, Fev. 2, 1938.
16. BUTT (H. R.), SNELL (A. M.) et OSTERBERG (A. E.). — Further observations on the use of vitamin K in the prevention and control of the hemorrhagic diathesis in cases of jaundice. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 13, 753, Nov. 1938.

17. CACHERA (R.). — Les syndromes hémorragiques. *Paris Médical*, 20, 297, 1941.
18. CAROLI (J.), LAVERGNE (H. et B.) et BOSE (B.). — Hémorragies des hépatiques ; taux de prothrombine et vitamine K. *Paris Médical*, 29, 75, 1939.
19. CLARK (R. L.), DIXON, BUTT (H. R.), SNELL (A. M.). — Deficiency of prothrombin associated with various intestinal disorders ; treatment with anti-hemorrhagic Vitamin. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 14, 407, 1939.
20. DAM (H.). — Haemorrhages in Chick's reared on artificial, diets new deficiency disease. *Nature*, 133, 909, June 1934.
21. DAM (H.). — The anti-hemorrhagic vitamin of the Chick : occurrence and chemical nature. *Nature*, 135, 652, April 1939.
22. DAM (H.) et GLAVIND (J.). — Vitamin K in human pothology. *Lancet*, 1, 720, March. 1938.
23. DAM (H.) et GLAVIND (J.). — Détermination of vitamin K, by the curative method. *Biochem. Jour.*, 125, 6, 1018, 1938.
24. DAM (H.), SCHÖNHEYDER (F.) et TAGE-HANSEN. — Studies on the mode of action of vitamin K. *Biochem. Jour.*, 30, 1075, June 1936.
25. DOYON (M.). — Modifications de la coagulabilité du sang consécutive à la destruction du foie. *Jour. Physiol. et Pathol. Gen.*, 7, 639, 1905.
26. DOYON (M.). — Incoagulabilité du sang provoquée par le chloroforme, rôle du foie. *C. R. Soc. Biol.*, 38, 30, 1911.

27. DREYFUSS (A.) et MEUNIER (P.). — Intérêt de l'analyse photométrique de la coagulation plasmatique. *C. R. Soc. Biol.*, 132, 439, 1939.
28. FERGUSSON (J. H.). — Heparin and plasma albumin in relation to thromboplastic action of trypsin, cephalin and brains extracts. *Proc. Soc. Exper. Biol. et Med.*, 42, 33, oct. 1939.
29. FERGUSSON (J. H.). — Coagulation of crystallin trypsin, cephalin and lung extract. *Amer. Jour. Phys.*, 126, 661, July 1939.
30. FERGUSSON (J. H.). — Clotting of hemophilic plasma by thromboplastic enzym. *Amer. Jour. Phys.*, 126, 669, 1939.
31. FERGUSSON et ERICKSON. — Calcium and céphalin in relation to clotting power of cristallin trypsin. *Proc. Soc. Exper. Bio. et Med.*, 40, 625, April 1939.
- 32.
33. FIECHTER (N.). — Eine Mickromethode zur Bestimmung der Prothrombinzeit. *Schweiz. Med. Wochenschrift.*, 12, 259, 1940.
34. FIESSINGER (N.) et LÉTARD (H.). — Le rôle des leucocytes et des plaquettes dans la coagulation du sang hémophile. *Communic. Soc. Fr. d'Hémath.*, 16 janv. 1941.
35. FIESSINGER (N.). — Les ferments des leucocytes. Masson, 1923.
36. FIESER (L.). — Quinones having vitamin K activity. *Jour. Amer. Chem. Soc.*, 7, 1925, July 1939.

37. FISCHER. — Einige Untersuchungen über das latente Bild der Blutgerinnung. *Biochem. Zeits.*, 270, 261, 1934.
38. FISCHER. — Blutgerinnung als unbegrenzt übertragbare Ketten-reaction. *Biochem. Zeits.*, 279, 100, 1935.
39. FORSTER et WHIPPLE. — *Amer. Jour. Phys.*, 58, 407, 1922.
40. GLAZKO (A.) et GREENBERG (D.). — The mechanism of the action of saliva in blood coagulation. *Amer. Jour. Phys.*, 135, 108, Janv. 1939.
41. GREAVES (J. D.). — The nature of the factor which is concerned in loss of blood coagulability of bile fistula and jaundiced rats. *Amer. Jour. Phys.*, 125, 423, 1939.
42. GREAVES (J. D.). — Studies on the vitamin K, requirements of the rat. *Amer. Jour. Phys.*, 125, 429, 1939.
43. GREAVES (J. D.) et SCHMIDT (C. L. A.). — Nature of the factor concerned in loss of blood coagulation of bile fistula rats. *Proc. Soc. Exper. Biol. and. Med.*, 37, 43, 1937.
44. HAWKINS (W. B.) et BRINKHOUS (K. M.). — Prothrombin deficiency, the cause of bleeding in bile fistula dogs. *Jour. Exp. Med.*, 63, 795, 1936.
45. HOWELL (W. H.). — The conditions of the blood in hemophilia, thrombosis and purpura. *Arch. Intern. Med.*, 13, 76, 1914.
46. HOWELL (W. H.). — The preparation and properties of thrombin together with observations

on antithrombin and prothrombin. *Amer. Jour. Phys.*, 26, 453, 1910.

47. HOWELL (W. H.). — The purification of heparin and its presence in blood. *Amer. Jour. Phys.*, 71, 553, 1929.

48. HOWELL (W. H.) et CEKADA (E. B.). — The cause of the delayed clotting of hemophilia blood. *Amer. Jour. Phys.*, 78, 500, 1926.

49. KARK (R.) et LOZNER (E. B.). — Nutritional deficiency of vitamin K in man. *Lancet*, 2, 1162, 1939.

50. KÁTO, KATSUJI et PONCHER. — Prothrombin in the blood of new-born infants. *Jour. Amer. Med. Assoc.*, mars 1940.

51. KOLLER (F.). — Die Beeinflussung der Blutgerinnung durch Vitamin K. *Helvetica medica acta*, 6, 686, 1939.

52. KOLLER (F.). — Die Behebung der hämorrhagischen Diathese bei Verschlussikterus durch Vitamin K. *Zentralblatt für Chirurgie*, 35, 1949, 1939.

53. KOLLER (F.). — Ueber die Klinische Wirksamkeit von Naphtochinonderivaten (Vitamin K-Wirkung). *Schweiz. Med. Wochenschrift*, 45, 1159, 1939.

54. KOLLER (F.) et FIECHTER (N.). — Die haemoechagische Diathese des Neugeborenen und ihre Beziehung zum Vitamin K. *Schweiz. Med. Wochenschrift*, 7, 136, 1940.

55. KOLLER (F.) et WUHRMANN (F.). — Die Blutgerinnungsstörung bei Stauungsikterus und ihre

- Behenung durch Vitamin K. *Klin. Wschr.*, 31, 1058, 1939.
56. LAVERGNE (B.). — Thèse Doct. Méd. Bordeaux, 1940.
57. LEREBOUTET (J.). — La vitamine K. *Paris médical*, 40, 241, 1940.
58. LÉTARD (H.). — Contribution à l'étude des propriétés et de la nature de la thromboplastine. *C. R. Soc. Biol.*, 135, 203, 1941.
59. LIAN (C.), SASSIER, FACQUET (J.), FRUMUSAN (P.). — Le dosage de la fibrinémie, technique et valeur seméiologique. Sa valeur dans les affections hépatiques. *Bull. et Mém. Soc. Méd. Hop.*, p. 598, 24 avril 1936.
60. LIAN (C.), et FRUMUSAN (P.). — Valeur seméiologique du dosage pondéral du fibrinogène sanguin dans les affections hépato-biliaires. *La Presse Médicale*, 20, 369, 9 mars 1938.
61. LIAN (C.), FRUMUSAN (P.) et SASSIER. — Méthode optique pour l'étude de la coagulation du sang technique et résultats. *Le Sang*, 8, 817, 1939.
62. MAC CORQUODALE (H.). — Identification of vitamin K. *Jour. Biol. Chem.*, 130, 453, 1939.
63. MAC CORQUODALE (H.), BURKLEY, THAYER, DOISY. — On the constitution of Vitamin K. *Jour. Amer. Chem. Soc.*, 7, 1928, July 1939.
64. MARMIER (R.). — Thèse Paris, 1939.
65. MEUNIER (P.). — Sur la cinétique de la coagulation plasmatique. Son étude par photométrie. *C. R. Acad. Sciences*, 211, 668, 1940.

66. MEUNIER (P.), HINGLAIS (H.) et BOVET (D.). — Avitaminose K et 2-méthyl, 1-4-naphtoquinone. Etude expérimentale chez le lapin. *C. R. Soc. Biol.*
67. MEUNIER (P.), HINGLAIS (H.), BOVET (D.) et DREYFUSS (A.). — Sur l'activité antihémorragique de la 2-méthyl 1-4-naphtoquinone chez le lapin et la possibilité d'une hypervitaminose K. *C. R. Acad. Sciences*, 210, 454, 1940.
68. NOLF (P.). — Action coagulante du chloroforme sur le plasma d'oiseau. *Arch. Intern. Phys.*, 16, 374, 1921.
69. NOLF (P.). — Obtention de la thrombozyme à l'état de pureté. *C. R. Soc. Biol.*, 84, 840, 1921.
70. NOLF (P.). — De quelques travaux récents sur la physiologie de la coagulation du sang. *Le Sang.*, 3, 257, 1936.
71. NYGAARD (K. K.). — Prophylactic and curative effect of vitamin K in hemorrhagic disease of the newborn (Hypothrombinemia hemorrhagica neonatorum). *Acta Obstetr. Gynecol. Scandin.*, 19, 361, 1939.
72. OSTERBERG (A. E.). — Vitamin K, its distribution and chemical properties method of preparation and essay. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic.*, 13, 72, 1938.
73. PATEK Jr (A. J.) et TAYLOR (F. H. L.). — Hemophilia. Some properties of a substance obtained from normal human plasma effective in accelerating the coagulation of hemophilic blood. *Jour. Clin. Investig.*, 16, 113, Janv. 1937.

74. POHLE (F. J.), STEWART (J. K.). — A study of the Guick method for the quantitative détermination of prothrombin : With suggested modifications. *Amer. Jour. Med. Sc.*, 198, 622, 1939.
75. PORTES (L.) et VARANGOT (J.). — Sur le taux de la prothrombine dans le sang maternel et dans le sang fœtal au moment de l'accouchement. *C. R. Acad. Sciences*, 212, 177, 1941.
76. PORTES (L.) et VARANGOT (J.). — Action de la 2-méthyl 1-4-naphtoquinone sur le taux de la prothrombine dans le sang maternel et fœtal au cours de l'accouchement. *C. R. Soc. Biol.*, 125, 353, 1941.
77. QUICK (A. J.). — The prothrombin in hemophilia and in obstructive jaundice. *Jour. Biol. Chem.*, 109, May 1935.
78. QUICK (A. J.). — On the action of heparin and its relation to thromboplastin. *Amer. Jour. Phys.*, 115, 317, 1936.
79. QUICK (A. J.). — On the coagulation defect in peptone shock ; a consideration of antithrombin. *Amer. Jour. Phys.*, 116, 535, 1936.
80. QUICK (A. J.). — The coagulation defect in Sweet-clover disease and in the hemorrhagic chick disease of dietary origin. *Amer. Jour. Phys.*, 118, 260, 1937.
81. QUICK (A. J.). — Vitamin K. *Jour. Amer. Méd. Assoc.*, 109, 66, July 1937.
82. QUICK (A. J.). — The nature of the bleeding in jaundice. *Jour. Amer. Med. Assoc.*, 111, 1658, May 1938.

83. QUICK (A. J.). — *Amer. Jour. Med. Sc.*, 199, 118, 1940.
84. QUICK (A. J.), LEU (M.). — Quantitative determination of prothrombin. *Jour. Biol. Chem.*, 119, June 1937.
85. QUICK (A. J.), Stanley BROWN (M.), BONCROFT (F. N.). — A study of the coagulation defect in hemophilia and in jaundice. *Amer. Jour. Med. Sc.*, 190, 501, Oct. 1935.
86. ROSKAM (J.). — Etude physiologique et pharmacodynamique de l'hémostase spontanée. *Le Sang*, 3, 225, 1939.
87. SMITH (H. P.), WARNER (E. D.), BRINKHOUS (K. M.). — Prothrombin deficiency and the bleeding tendency in liver injury (chloroform intoxication). *Jour. Exper. Med.*, 66, 801, 1937.
88. SMITH (H. P.), WARNER (E. D.), BRINKHOUS (K. M.). — Bleeding tendency and prothrombin deficiency in biliary fistula dogs, effect of feeding bile and vitamin K. *Jour. Exper. Med.*, 67, 911, 1938.
89. SMITH (H. P.), et ZIFFREN (S. E.). — Clinical and experimental study on vitamin K. *Jour. Amer. Med. Assoc.*, 113, July 1939.
90. SNELL (A. M.). — Clinical and experimental conditions associated with a deficiency of prothrombin. *Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic.*, 13, 65, 1938.
91. SNELL (A. M.). — Vitamin K. A principle useful in certain hemorrhagic conditions. *Jour. Amer. Med. Assoc.*, 112, 1457, 1938.

92. SNELL (A. M.), BUTT (H. R.), OSTERBERG (A. E.). — Treatment of the hemorrhagic tendency in jaundice ; with special reference to vitamin K. *Amer. Jour. Dig. Dis.*, 5, 590, 1938.
 93. SNELL (A. M.), BUTT (H. R.), OSTERBERG (A. E.). — Vitamin K in hemorrhagic tendency in jaundice. *Jour. Amer. Med. Assoc.*, 111, 423, 1938.
 94. THAYER (J.A.), CHENEY (L. C.), BINKLEY (S. B.), Mac CORQUODAL (D. W.) et DOISY (E. A.). — Vitamin K activity of some quinones. *Amer. Chem. Soc.*, 7, 1932, July 1939.
 95. WARNER (E. D.). — Plasma prothrombin ; effect of partial hepatectomy. *Jour. Exper. Med.*, 68, 831, 1938.
 96. WARNER (E. D.), BRINKHOUS (K. M.) et SMITH (H. P.). — A quantitative study on blood clotting : prothrombin, fluctuations under experimental conditions. *Amer. Jour. Phys.*, 114, 667, 1936.
 97. WARNER (E. D.), BRINKHOUS (K. M.) et SMITH (H. P.). — Bleeding tendency of obstructive jaundice : prothrombin deficiency and dietary factors. *Proc. Exper. Biol. Med.*, 37, 628, 1938.
 98. WARNER (E. D.), BRINKHOUS (K. M.) et SMITH (H. P.). — Plasma prothrombin level in various vertebrates. *Amer. Jour. Phys.*, 125, 296, 1939.
 99. WHIPPLE et HURWITZ. — Fibrinogen of the blood as influenced by the liver necrosis of chloroform poisoning. *Jour. Exper. Med.* 13, 136, 1911.
-